

# 第1章 緒 論

## 第1節 低アミロ小麦の定義と北海道の特殊性

北海道における小麦栽培面積はおよそ9万haで、畑作経営の基幹作物であると同時に水田転換作物としても重要な位置を占めている。その生産量はおよそ30~40万tで、国内生産量60~80万tの約半数を占めるに至っている(図I-1)。その約9割はチホクコムギやホクシンなどの秋播小麦であり(図I-2)、主として中力粉としてうどんなどの麺に加工し、消費されている<sup>51, 87, 88)</sup>。

パン用、麺用、菓子用その他を含めた国内の小麦総需要量は600~630万tでほぼ一定しているが、これに占める国産小麦の自給率は10%程度で大きな比重とはいえない。しかし、麺用などの中力粉に限ってみれば、国産小

麦の占める割合は相対的に高まり、特に国産小麦の過半を生産する北海道については、その品質動向は需用者から常に注視されている。

一般に小麦は小麦粉に製粉されてから、パン、麺、菓子などに加工されることから、その品質項目は用途別に多岐にわたる<sup>51, 74)</sup>。千粒重、リットル重、灰分、子実硬度などは製粉性に影響する。蛋白含有率は小麦の用途を左右する重要な指標で、高蛋白小麦は強力粉としてパンに、中蛋白小麦は中力粉として麺に、低蛋白小麦は薄力粉として菓子に用いられる。国産小麦の主用途である麺用として特に重要な品質項目がアミロ値である。

アミロ値とは、でん粉の糊化粘度を表すアミログラム最高粘度を示し、その測定にはブラベンダー社のアミロ

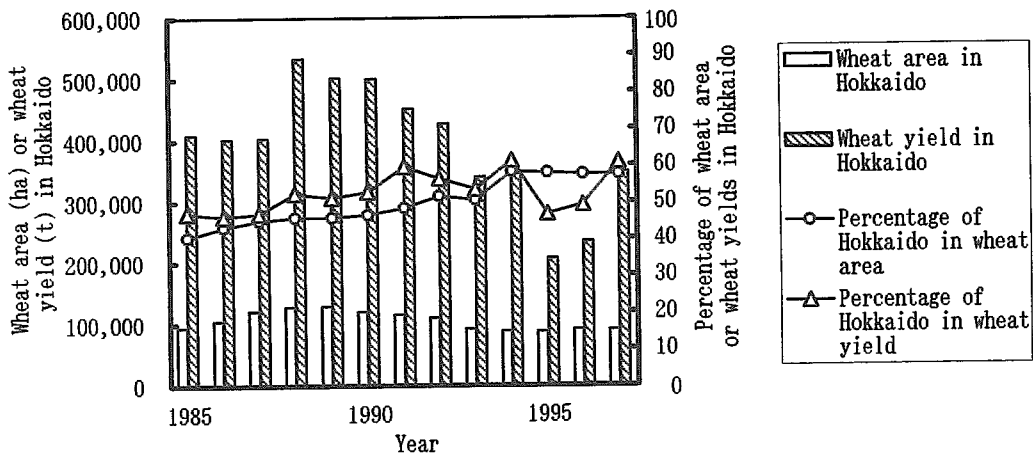


図 I - 1 Cultivated area and total amount of grain yield of wheat in Hokkaido, and these percentage to Japan from 1985 to 1997.

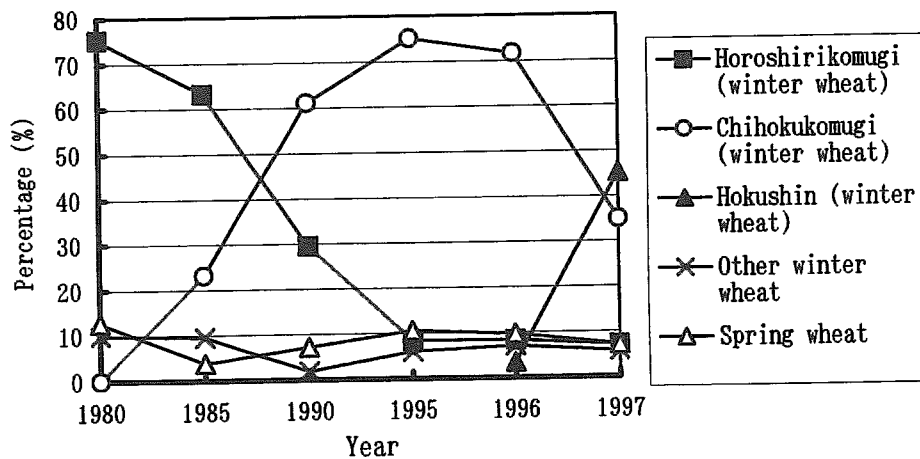


図 I - 2 Percentage of cultivated area of wheat varieties in Hokkaido.

グラフが用いられる。良好な条件下で栽培および収穫された小麦のアミロ値はおよそ600B. U. (ブラベンダー・ユニット) 以上を示すが、アミロ値が大きく低下 (300B. U. 以下) したものがいわゆる低アミロ小麦である<sup>51, 53, 89, 99)</sup>。低アミロ小麦という呼称はアミロ値が低い小麦の意味で、当初は製粉・加工業者間などで用いられてきたが、その重要性から使用範囲が次第に広がり、現在では小麦の生産者から研究者まで一般的に用いられている。

低アミロ小麦は需用者から「小麦であって小麦でない」と酷評され、でん粉の粘度が低いために、加工適性が劣り利用が困難とされている<sup>29, 31, 51, 52, 53, 54, 74, 89, 99)</sup>。たとえば麺用では、麺をゆでている間にでん粉が麺帯から溶出するため、製品歩留が低下するとともに、麺の表面が荒れてなめらかさがなくなったり、こしが低下したりする<sup>31, 51, 54, 89)</sup>。

アミロ値低下の直接の原因は、小麦子実に含まれる $\alpha$ -アミラーゼによってでん粉が分解されるため<sup>10, 103, 104)</sup>、両者には高い負の相関が認められている<sup>45, 57, 59, 100)</sup>。 $\alpha$ -アミラーゼが高まる理由として、穂発芽の影響が指摘されている<sup>10, 14, 51)</sup>。穂発芽とは、収穫前の子実が降雨に遭うと穂の中で発芽 (Pre-harvest sprouting) することで、この過程で $\alpha$ -アミラーゼが発現する。

発芽粒混入率については、食糧庁の農産物検査規格で上限が2%とされており、それ以上は規格外となり食用には流通させないよう規定されている<sup>90)</sup>。しかし、穂発芽粒率2%以下の規格内流通小麦でも低アミロ小麦が多く認められるため<sup>14, 54, 89)</sup>、これを購入した製粉・加工業界から加工適性が劣るとクレームの対象となっている。

小麦の穂発芽は世界的に大きな問題であり、収穫期が降雨に当たる地域はもちろん、乾燥地帯でも穂発芽しやすい白粒種を栽培している地域では発生の危険性が高い<sup>97)</sup>。また、小麦は国際的な貿易作物であり、アメリカ、カナダ、

オーストラリアなどの輸出国は、日本などの輸入国から高い品質規格を求められるため、アミロ値は国際的にも重要な品質項目となっている<sup>55)</sup>。

低アミロ小麦の発生は気象条件に左右されるため、年次および地域による変動が大きい。日本国内においては北海道で多いことが知られている<sup>87, 89, 93)</sup>。また、府県と北海道では穂発芽および低アミロ小麦発生の様式が異なる。すなわち府県では小麦収穫期が梅雨時期に重なりと長雨により穂発芽が発生し低アミロ化する<sup>10)</sup>。一方、北海道においては梅雨はないが、小麦の成熟期から収穫に当たる7月下旬から8月(上~)中旬は比較的降雨が多く、穂発芽の原因となる。また、この頃の気温も府県の収穫時期より低くなることが多く、このことも穂発芽の発生を助長している。特に十勝地方ではこの期間が低温かつ高湿傾向で、最高気温が15℃未満で日照がない日も珍しくない。また、朝夕に細霧が降ることもしばしばある。これらのことから、土屋<sup>95)</sup>は府県での穂発芽は高温・多湿型であるのに対して、北海道では低温・多湿型もしくは混合型で傾向を異にしている。

また、府県では小麦栽培の歴史が長いから、絶えず品種改良が行われ、穂発芽しにくい品種が育成されてきたが、北海道ではその歴史が浅く、品種改良が十分に進んでこなかったことも低アミロ小麦発生が多い要因と考えられる<sup>26)</sup>。北海道で小麦栽培を定着させるためには、付与すべき越冬性や耐病性など他の重要な問題があり<sup>76)</sup>、穂発芽が重要視されたのはこれらがクリアされ、道内における栽培面積が増加した近年になってからである。

アミロ値は食糧庁の検査項目となっていないため、道内におけるその発生程度を具体的に示す資料は少ない。そこで、その代替として1985~1997年の規格外小麦の推移をみた(図I-3)。最近13年間の道産小麦の規格外

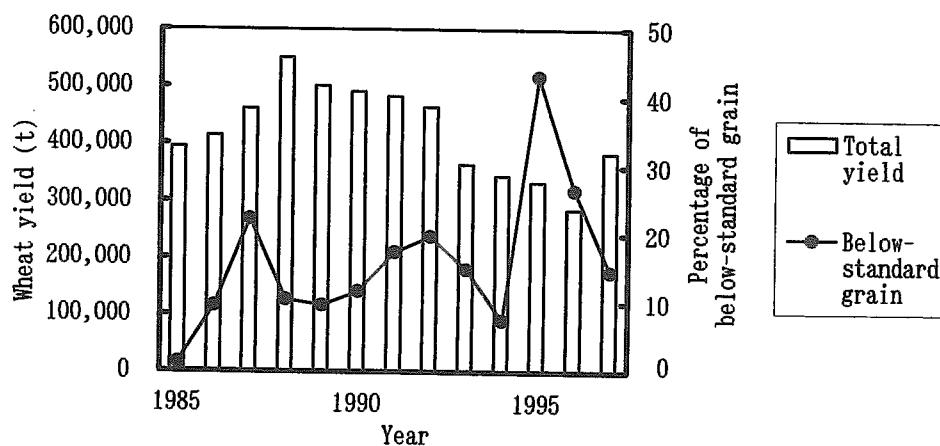


図 I - 3 Total amount of wheat yield in Hokkaido and percentage of below-standard grain including germinated grain of wheat from 1985 to 1997.

率の平均は16%にも達している。規格外小麦のすべてが穂発芽粒とはいえないが、そのかなりの部分を占めていると思われる。特に1995年は網走地方を中心に穂発芽が多発し、大規模な被害をもたらした(規格外率約45%)。これらのうちのかなりの量は低アミロ小麦によるものと推測される<sup>64)</sup>。

このように、道内における低アミロ小麦に関する地域の特徴や発生要因に関する調査事例が少ないことから、全道的な発生実態調査を実施し地域の特徴を把握するとともに、気象条件や栽培方法との関連を検討する必要がある。そこから、北海道における低アミロ小麦の発生様式を類型化し、対策のための基礎的知見を得ることが急務と考えられる。

## 第2節 低アミロ小麦の発生要因と品種間差

アミロ値低下は $\alpha$ -アミラーゼの発現が直接の原因であるが、酵素の発現には降雨を引き金とした穂発芽が関与していることが多い。しかし、降雨から穂発芽、さらに $\alpha$ -アミラーゼの発現に至る過程には多くの要因が関与し、非常に複雑である(図I-4)。すなわち、降雨に遭うと子実は穂中で吸水を始めるが、どの程度吸水するかは雨の降り方や湿度、降雨後の日照などの気象要因が大きく影響する<sup>10)</sup>。また、吸水速度には品種間差があり、同じ降雨条件でも穂中子実の吸水程度には差があることが知られている<sup>10, 27, 28, 38)</sup>。

吸水した子実が穂発芽するかどうかには休眠性が大きく影響する<sup>26, 38, 44)</sup>。すなわち、休眠が維持されている間は雨に遭っても穂発芽や $\alpha$ -アミラーゼの発現は起こりに

くい。しかし、成熟期から時間が経過するほど休眠は破れやすくなり、降雨により穂発芽および $\alpha$ -アミラーゼが活性化しやすくなる。このように、休眠程度は成熟期付近で最も深く、その後は経時的に低下する<sup>21, 95)</sup>。また、降雨時の気象条件として低温ほど休眠が打破されやすいことが知られている<sup>1, 33, 78, 79)</sup>。さらに、登熟期の気象条件が休眠の形成に影響することも報告されている<sup>32, 46, 84)</sup>。

気象条件以外にも様々な要因が休眠に影響している。小麦はその種皮色により赤粒種と白粒種に大きく分けられるが、赤粒種は一般に白粒種より休眠性に優れている<sup>10, 41, 48)</sup>。したがって、日本やヨーロッパなど比較的降雨の多い地域では赤粒種が作付けされ、オーストラリアやアメリカ、カナダなどの乾燥地帯では白粒種が多く栽培されている。また、同じ赤粒種でも休眠性の品種間差は大きい。この理由として子実中の植物ホルモン(アブシジン酸やジベレリンなど)の量やこれらに対する感受性が影響していると報告されている<sup>23, 24, 56, 67, 68, 98)</sup>。さらに、各種の発芽抑制物質の関与が指摘されているが十分解明されていない<sup>71, 96)</sup>。

このように、低アミロ小麦の発生には気象要因と品種的要因が関与しているが、気象は人為的に制御できないため、発生防止対策の基本は品種改良となる。すなわち、休眠の打破されにくい品種(高休眠性品種)を開発することに主眼がおかれ、国内はもとより世界中で品種改良が営々と積み重ねられてきた<sup>3, 21, 39, 77, 95)</sup>。休眠性を評価する手法としては、子実をシャーレなどで吸水させ、一定時間後の発芽程度を調査する検定法が用いられている。

一方、穂発芽検定も休眠性の評価法の1つとして広く

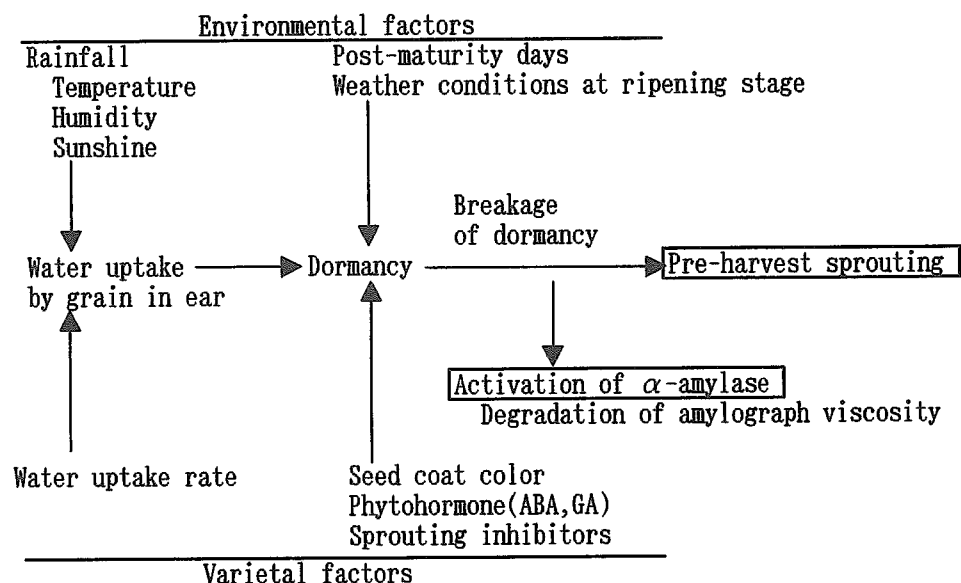


図 I - 4 Factors influencing on pre-harvest sprouting and  $\alpha$ -amylase activity.

行われている。具体的には、圃場から採取された穂試料に降雨処理を施し、発芽程度を観察するのが一般的である。この場合、子実の休眠性だけでなく、穂中子実の吸水速度や穂殻に含まれる発芽抑制物質などが総合的に評価されている。

また、育種現場では晩刈りという検定法も広く用いられている<sup>50)</sup>。この方法は成熟期以降の比較的長い期間(2~3週間程度)、小麦を圃場に放置し、降雨にさらした後の発芽程度を調査するものである。特に装置を必要としないことから、場所を選ばず非常に簡便である。また、自然降雨条件における穂発芽程度を比較することから、実際の農家圃場における穂発芽の難易を比較的正確に反映すると考えられ、信頼性は高いといえる。

しかし、農家圃場で収穫された小麦においては穂発芽の発生程度とアミロ値との相関はそれほど高くなく、穂発芽していないのにアミロ値の低い小麦が多数認められている<sup>14, 51, 59, 69)</sup>。また、特定の品種においては発芽現象をほとんどまたはまったく伴わない高 $\alpha$ -アミラーゼ活性現象が報告されている<sup>17, 62, 63, 85)</sup>。同様な現象は海外でも認められており、pre-mature  $\alpha$ -amylase (PMAA) またはlate maturity  $\alpha$ -amylase (LMA) と呼ばれている<sup>7, 8, 9, 25, 35, 36, 42)</sup>。特徴としては成熟期時点で発芽していないのに高 $\alpha$ -アミラーゼ活性を示すことである。

したがって、品種改良を進めていくためには、穂発芽耐性だけでなく、 $\alpha$ -アミラーゼ活性の高低も重要である。そこで、穂発芽耐性ととも $\alpha$ -アミラーゼの活性に注目した低アミロ耐性(穂発芽しにくく、しかも $\alpha$ -アミラーゼが低い)という概念を提起したい。

北海道の小麦育種では、穂発芽処理による穂発芽耐性や圃場における穂発芽の発生程度を主として検定してきた。一時期、 $\alpha$ -アミラーゼ活性測定による内部的品質変化の重視も打ち出されたが、実際の検定法としては定着しなかった。

次に、道内の主要秋播小麦品種における穂発芽耐性の変遷について述べると、1974年に育成されたホロシリコムギ<sup>11, 70)</sup>は、それまで栽培されていたムカコムギが穂発芽しやすく耐性評価が弱であったのに対して、耐性が向上し評価は中となった。しかし、ホロシリコムギはでん粉の糊化特性が劣るため麺の食感も劣り<sup>94)</sup>、需用者の評価は必ずしも高くなかった<sup>51, 87)</sup>。1981年に育成されたチホクコムギ<sup>12, 70, 80)</sup>は麺適性に優れるが、穂発芽耐性がやや弱に後退し、年次や地域により穂発芽および低アミロ小麦が発生し大きな問題となった。ホクシン<sup>15)</sup>は1994年にチホクコムギを片親として育成された新品種で、穂発芽耐性はチホクコムギより向上している。その他の品種

あるいは系統の中では、北系1354号は穂発芽耐性向上を目的として道立北見農業試験場が育成した系統で、また、SatantaとLancerは穂発芽耐性が強いことから、育種母材として導入されたカナダの品種である<sup>95)</sup>。

今後、品種改良により低アミロ耐性を向上させるためには、その基礎的知見として道内の様々な品種について成熟期前後の穂発芽粒率と $\alpha$ -アミラーゼ活性の推移を検討し、低アミロ耐性の品種間差を明らかにすることが重要である。また、低アミロ耐性品種を育成するための効率的な検定法を確立するとともに、品種改良の母材として、これまで以上に耐性の高い品種や系統を検索する必要がある。

### 第3節 栽培条件がアミロ値および他の小麦品質に及ぼす影響

低アミロ小麦の発生は気象条件と品種の低アミロ耐性に大きく左右されるが、栽培条件による影響も無視できない。特に収穫時期は低アミロ小麦の発生程度に大きな影響を及ぼすとされている<sup>10, 30, 92)</sup>。また、窒素施肥法や倒伏の発生が低アミロ小麦発生に及ぼす影響も検討する必要がある<sup>5, 60)</sup>。

本研究では小麦品質の中でも麺適性に大きな影響を及ぼすアミロ値を主たる研究対象としているが、アミロ値以外の蛋白含有率、粉の色なども麺適性として重要な品質である<sup>51, 87, 93)</sup>。そこで、収穫時期や窒素施肥法などの栽培条件や倒伏などの生育条件がこれら品質項目に及ぼす影響も検討する必要がある<sup>6, 82, 83)</sup>。さらに、アミロ値(穂発芽)と蛋白含有率、粉の色などとの相互の関連も興味深い点である。

### 第4節 本研究の目的および概要

以上のことから、本研究は北海道内における低アミロ小麦の発生実態および発生要因を明らかにするとともに、品種改良および栽培法等の改善により、低アミロ小麦の発生防止を目指すものである。このために、本研究では以下の項目について調査および試験を実施した。

1. 低アミロ小麦の発生実態と類型化
2. 低アミロ小麦の発生要因の解析
3. 低アミロ耐性母材の検索
4. 窒素施肥および降雨が小麦品質に及ぼす影響

これらの研究の中で、従来の知見とは異なる新たな低アミロ小麦の発生様式が確認された。すなわち、一部の品種は成熟期前後に発芽に由来しない高 $\alpha$ -アミラーゼ活性(pre-mature  $\alpha$ -amylase : PMAA)を示すこと。また、登熟期が低温かつ高湿条件では成熟期で既に穂発芽

と $\alpha$ -アミラーゼが発現する (Pre-maturity sprouting  $\alpha$ -amylase : PrMS) ことである。したがって、低アミロ耐性品種 (穂発芽しにくくかつ低 $\alpha$ -アミラーゼ活性を維持する) の選抜のためには、穂発芽耐性と同時に成熟期の $\alpha$ -アミラーゼ活性が重要であることを指摘し、このための検定法を示した。また、主要な小麦品種の低アミロ耐性を評価するとともに、育種目標を設定した。今後、これらの知見を活用することにより、北海道産小麦

の低アミロ耐性は確実に向上すると期待される。

品種開発以外では、栽培法および収穫法の改善による低アミロ小麦発生軽減の方策を示した。さらに、低アミロ小麦が発生した場合でも高品質な小麦を流通させるために、簡易迅速な低アミロ小麦の仕分け方法を提案した。以上のように、本研究は北海道内における低アミロ小麦問題について、発生要因から防止対策まで総合的に研究したものである。

## 第2章 北海道における低アミロ小麦の発生実態と類型化

### 第1節 緒言

低アミロ小麦は国内では北海道で発生が多いとされているが、これまで全道的な発生実態は把握されておらず、また気象条件や栽培条件との関係についても十分解明されていない。

また、低アミロ小麦の発生は $\alpha$ -アミラーゼの発現が直接の原因であり、 $\alpha$ -アミラーゼの発現には降雨を引き金とした穂発芽の発生が大きく影響するとされている<sup>10,30,38,95</sup>。また、穂発芽耐性には品種間差が存在することが知られている<sup>1,3,39,40,78,79</sup>。しかし、北海道内において、 $\alpha$ -アミラーゼの挙動やその品種間差に関して調査した研究事例は少ない。

小麦の $\alpha$ -アミラーゼは等電点(pI)により大きく二つのアイソザイムに分けられ、成熟期前ではpIの低い $\alpha$ -アミラーゼ(一般にAmy-2と呼ばれている)が果皮部(pericarp)に多く含まれる<sup>7,8,37,63</sup>。Amy-2は子実が緑色の時期に発現していることからグリーン $\alpha$ -アミラーゼとも呼ばれている。成熟期以降の発芽により $\alpha$ -アミラーゼが発現する場合、最初にpIの高い $\alpha$ -アミラーゼ(Amy-1)が認められ、やや遅れてAmy-2も発現する。このようにAmy-1は発芽とともに発現することが多いことからモルト $\alpha$ -アミラーゼとも呼ばれている。しかし、北海道内で小麦 $\alpha$ -アミラーゼアイソザイムについて解析した事例はほとんどない。

以上のことから、本章では北海道内における低アミロ小麦の発生実態を把握するとともに、気象条件や栽培条件との関係を解析する。さらに、穂発芽耐性の異なる品種について、成熟期前後の $\alpha$ -アミラーゼ活性、穂発芽粒率およびアミロ値を経時的に調査し、品種間差を明らかにする。さらに、 $\alpha$ -アミラーゼアイソザイムおよび粒内における $\alpha$ -アミラーゼ分布の推移を解析し、北海道における低アミロ小麦発生の類型化を試みた。

これに先立ち、 $\alpha$ -アミラーゼ活性測定法について検討を加えた。すなわち、低アミロ小麦の判定にはアミログラフを用いるのが公定法であるが、測定には100g以上の小麦試料を必要とし、また測定時間も1点当たり1時間を要し迅速性に欠ける。そこで、これまで内外の研究者により、アミロ値を簡易迅速に推測する各種の方法が提案されている。

その一つがアミロ値低下の原因である $\alpha$ -アミラーゼ

活性を測定するものである。ここでは、着色デンプンを基質としたブルースターチ法<sup>4,45,57,59</sup>とオリゴ糖の誘導体(Blocked *p*-nitrophenyl maltoheptaoside)を基質としたCeralpha法<sup>49,65,100</sup>の二つの方法を用いて、小麦子実中の $\alpha$ -アミラーゼ活性を測定するとともに、アミロ値との関係を解析した。

### 第2節 実験材料および方法

#### 第1項 分析法

##### 1. 試料の調製

###### 1) 全粒粉

乾燥した小麦子実を0.5mm目のスクリーンをつけた高速遠心粉碎器(Retch社)で粉碎し、全粒粉とした。

###### 2) 小麦粉

製粉は子実水分を14%に調整した後、小型製粉機(ブラベンダー社製Quadrumat・Junior)で製粉し、小麦粉を調製した<sup>69</sup>。

##### 2. 調査および分析方法

###### 1) 穂発芽粒率

発芽または発根が認められる粒(発芽発根粒)、および胚の皮部がふくらみ破れている粒(芽切り粒)を穂発芽粒とし、全体に占める割合(%)で示した。

###### 2) 子実水分

105℃、16時間の乾燥法または130℃、1時間の乾燥法により求めた。

###### 3) アミロ値

小麦粉について小麦品質検定法<sup>69</sup>に準拠してアミロ値を測定した。すなわち、小麦粉65g(水分13.5%ベース)に脱塩水450mlを加えよく混合した後、カップに移し攪拌羽とともにアミログラフ本体にセットした。カップは回転しながら、28℃から92℃まで1.5℃/分で加熱した。この間、小麦粉けん濁液の糊化により生じる粘性を羽にかかる抵抗として測定し、ピークの高さをアミログラム最高粘度(アミロ値)とし、ブラベンダーユニット(B.U.)で表示した。

4) ブルースターチ法による $\alpha$ -アミラーゼ活性の測定  
松倉らの方法<sup>45</sup>の一部を改変し、以下の手順で分析した(図II-1)。

###### (1) $\alpha$ -アミラーゼの抽出

酵素の抽出には0.5%NaClおよび0.02%CaCl<sub>2</sub>を含む抽出液を用いた。生麦については子実試料10gに抽出液

200mlを加え、ミキサーで3分間ホモジナイズし、No. 5 A (アドバンテック東洋) 濾紙を用いて濾過し粗酵素液を得た。全粒粉については、試料1gに抽出液20mlを加え、5分間攪拌し濾過して粗酵素液を得た。

#### (2) 反応

粗酵素液3mlを試験管に採り、50°Cの温浴槽で5分間プリインキュベーションした後、基質懸濁液(第一化学薬品株式会社「ネオアマラーゼテスト」1粒を0.1M酢酸緩衝液pH5.0, 4.5mlに混合)1mlを加え、5分ごとに攪拌しながら30分間反応させた。

#### (3) 測定

1mlの0.5N水酸化ナトリウムを加え、反応を停止させた後、濾過して得られた濾液について、620nmの吸光度を測定した。

#### (4) 測定値の計算と表示

試料の吸光度から、抽出溶液をブランクとした吸光度を差し引いた後、水分補正して乾物当りの吸光度を求めた。さらに、吸光度を試料1g相当量に換算してから自然対数に変換した値を $\alpha$ -アマラーゼ活性( $\ln \text{Abs}_{620}$ )とした。なお、吸光度がスケールオーバーした場合は、粗酵素液を適宜希釈して再度測定した。

#### 5) ブルースターチ法による $\alpha$ -アマラーゼ活性測定の時間短縮化

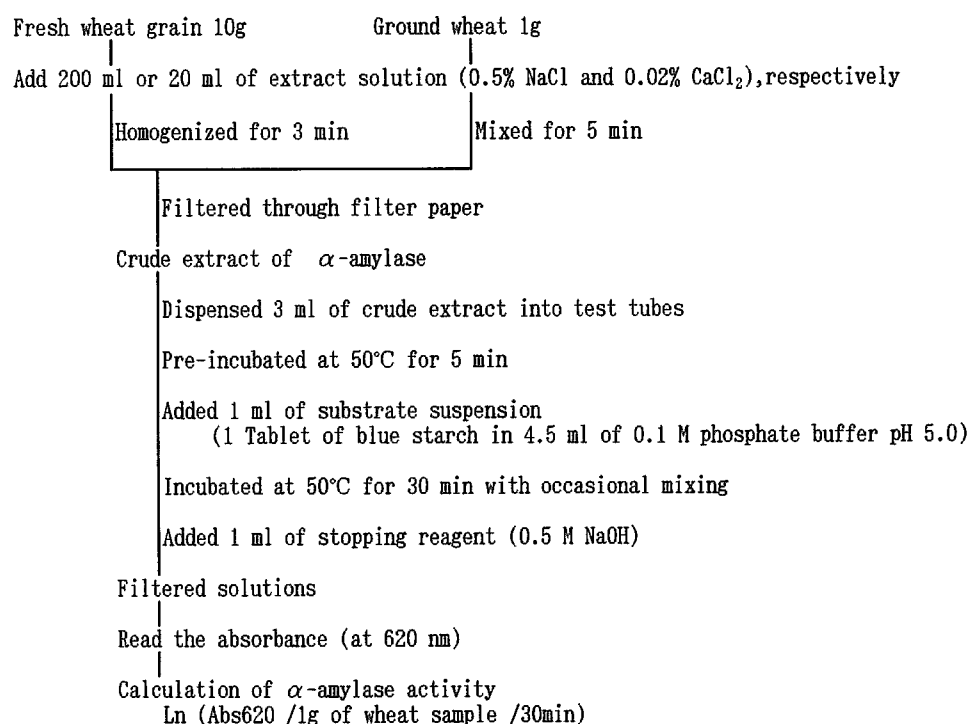
ブルースターチ法による測定の迅速化を図るため、反応条件を55°C、5分間とした短縮法を考案した。なお、

$\alpha$ -アマラーゼ活性値の算出は常法と対比するために、吸光度に6を乗じて、30分反応に換算した後、自然対数変換した。

6) Ceralpha法による $\alpha$ -アマラーゼ活性の測定と自動化  
手分析は測定キットに付属するマニュアルに従い、キットの試薬を用いて行った。また、本測定法の簡易迅速化を目的に、ブランルーベ社製のオートアナライザー(AAII型)を改良した自動測定方法を開発した<sup>65)</sup>。測定は図II-2のフローダイアグラムに従って行った。自動分析に使用する試薬はキットのものを一部改変して用いた。すなわち、基質液は試薬を節約するためとオートアナライザーの測定感度が高いことを考慮して、脱イオン水で規定の3倍に希釈した。停止液および緩衝液には界面活性剤としてTritonX-100を0.1%添加した。 $\alpha$ -アマラーゼ活性はキットと同梱された活性既知の試料との吸光度比から算出し、乾物1g当たりの活性(mU/g)で示した。

#### 7) $\alpha$ -アマラーゼアイソザイムの解析

全粒粉0.2gに0.05Mトリス緩衝液(pH7.5), 0.8mlを加え、遠心分離により粗酵素液を得た(図II-3)。粗酵素液を70°Cで15分間加熱処理し、 $\beta$ -アマラーゼを失活させた後、アンフォライン(pH3.5~9.5)を用いて等電点電気泳動した。電気泳動装置にはMaltiphor II (ファルマシア社)を用いた。泳動終了後のゲルをでん粉溶液(可溶性でん粉3gを0.1M酢酸緩衝液(pH5.5)100mlで加



図II-1 Assay scheme of  $\alpha$ -amylase activity in wheat grain using blue starch as substrate.

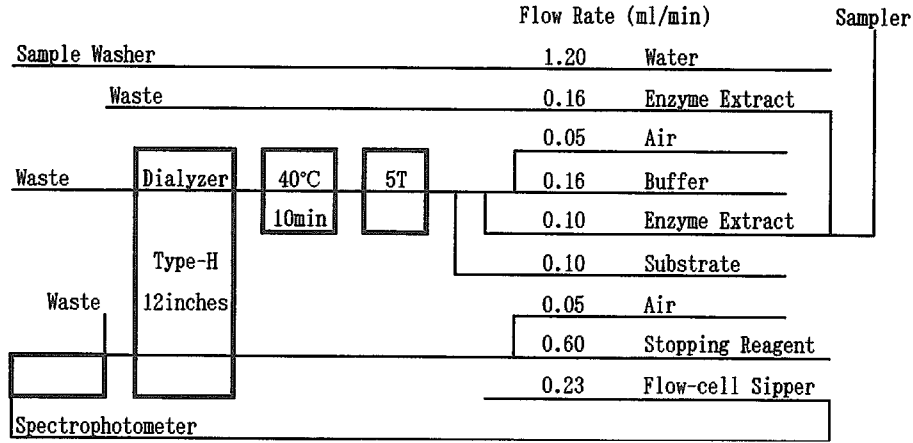


図 II - 2 Flow diagram of auto analyzer (Bran+Luebbe Type- II) for measuring  $\alpha$ -amylase activity using substrate of blocked *p*-nitrophenyl maltoheptaoside.

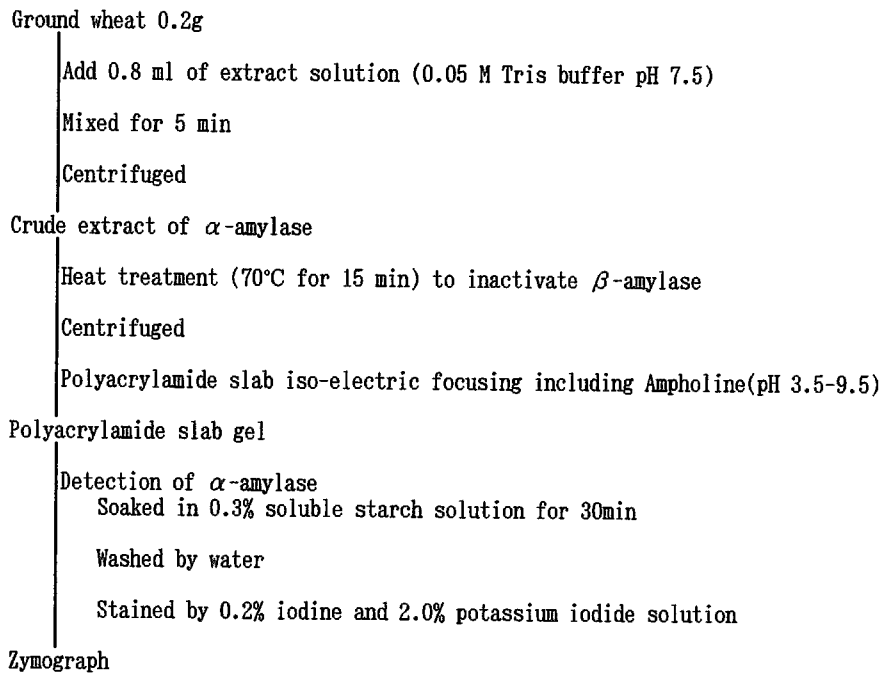


図 II - 3 Assay scheme of  $\alpha$ -amylase isozymes of wheat grain by iso-electric focusing.

熱溶解した後、40°C程度まで冷却したもの) に浸した後、洗淨し、ヨウ素液 (0.2%ヨウ素, 2%ヨウ化カリウム液) に浸し、ヨウ素-でん粉反応により活性染色を行った。

8)  $\alpha$ -アミラーゼの粒内分布

小麦子実50粒を胚部と胚乳部に2分割し (図 II - 4), 重量測定後、それぞれの  $\alpha$ -アミラーゼ活性を測定した。

第2項 低アミロ小麦発生実態調査

1. 供試試料

1989~1991年 (収穫年次) に道内の農家圃場で収穫・乾燥されたチホクコムギ計1,709点 (1989年: 595点, 1990

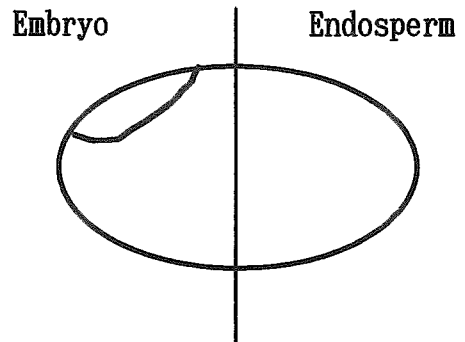


図 II - 4 Transsection of wheat grain.



年：621点，1991年：493点）を調査した。

2. 調査項目

(1) 気象条件

登熟後期から試料採取までの気象情報（気温，降水量，日照時間）には北海道農業試験研究情報システム(HARIS)のアメダスデータを利用した。

(2) 栽培条件および生育経過

播種期，収穫期，施肥量，土壌タイプ等の栽培条件と成熟期（茎葉から緑色が抜け，子実水分がほぼ40%に低下した時期を指す）等の生育経過については聞き取り調査を実施した。

3. 分析項目：アミロ値

第3項 α-アミラーゼ活性の経時変化測定

1. 試験圃場，試験年次，供試品種

1988～1995年に北海道立中央農業試験場（以下，中央農試と略す．長沼町），北海道立十勝農業試験場（以下，十勝農試と略す．芽室町），北海道立北見農業試験場（以下，北見農試と略す．訓子府町）において，穂発芽耐性の異なる秋播小麦6品種（チホクコムギ，ホロシリコムギ，ホクシン，北系1354，Lancer，Satanta）を栽培した。

2. 試料採取

成熟期の約2週間前から約4週間に，およそ3日間隔に穂を採取し，一部は子実水分の測定に供した。他は乾燥後，脱穀し，穂発芽粒率，α-アミラーゼ活性，アミロ値などの調査分析に供試した。

第3節 実験結果および考察

第1項 二つのα-アミラーゼ活性測定法の比較検討

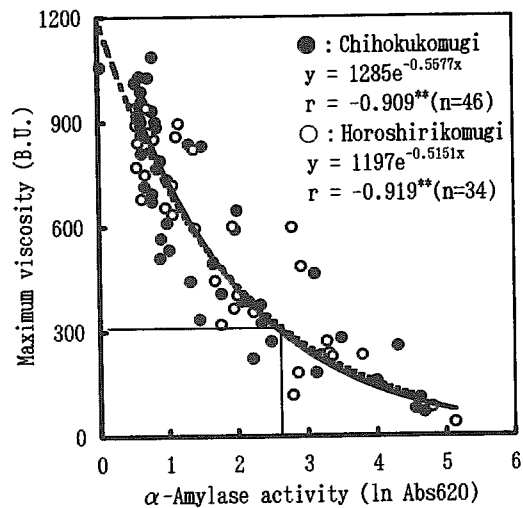
本研究で用いた二つのα-アミラーゼ活性測定法について，その特徴を述べると，ブルースターチ法は青色色素を結合させた不溶性でん粉にα-アミラーゼを作用させ，溶出する色素を比色する方法で，国内外の穀類品質研究者や育種研究者に広く用いられている。本法の短所として，反応時間が30分とやや長いため迅速性に劣る点と，活性を吸光度で表示するため同一分析条件下での比較は可能であるが，分析条件の異なる研究者間では比較が困難な点である。

Ceralpha法はオリゴ糖誘導体 (Blocked *p*-nitrophenyl maltoheptaoside) を基質とした測定法で，オーストラリアのMegazyme社から測定キットが市販されている。この方法ではグルコースが7つ結合した糖鎖がα-アミラーゼによって分解されると，*p*-nitrophenolを遊離し発色するものである。ブルースターチ法と同様に少量試料で多点分析が可能である。また，酵素単位 (Unit) 表示が

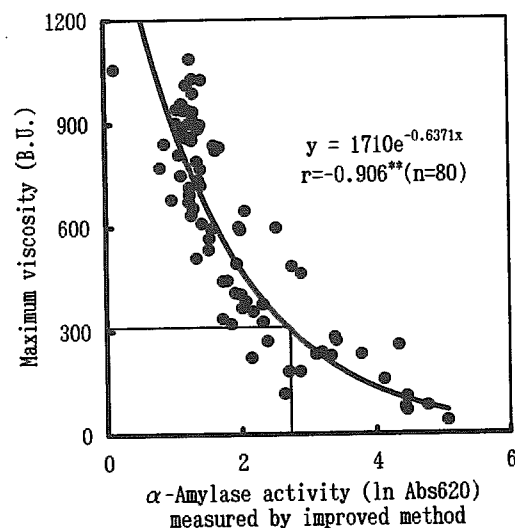
可能である。本法は基質が水溶性であるため，オートアナライザーによる自動分析への適用が可能である。

最初にブルースターチ法のα-アミラーゼ活性 (ln Abs 620) について，アミロ値との相関を検討した結果 (図II-5)，チホクコムギでは指数回帰で  $r = -0.909^{**}$  (n=46)，ホロシリコムギでは  $r = -0.919^{**}$  (n=34) の高い負の相関が認められた。また，両者の分布および回帰線はほぼ重なり合っており，品種間差は認められなかった。

さらに，ブルースターチ法の測定時間の短縮化を検討



図II-5 Relationships between α-amylase activity of ground wheat measured by blue starch method and maximum viscosity of flour in Chihokukomugi and Horoshirikomugi. \*\*: Significant at 1% level.



図II-6 Relationship between α-amylase activity of ground wheat measured by improved blue starch method (incubation of 55°C, 5min.) and maximum viscosity of flour. \*\*: Significant at 1% level.

した結果、常法により測定された $\alpha$ -アミラーゼ活性と短縮法の $\alpha$ -アミラーゼ活性との相関は $r = 0.987^{**}$  ( $n = 80$ )と非常に高く、ほぼ直線的な関係が認められた。また、短縮法による $\alpha$ -アミラーゼ活性値とアミロ値との相関を検討した結果、 $r = -0.906^{**}$ の高い相関が得られた(図II-6)。したがって、測定時間の短縮が可能と判断された。また、回帰式は $y = 1710e^{-0.637x}$ で示され、アミロ値300B.U.に対応する $\alpha$ -アミラーゼ活性は2.73であった(表II-1)。したがって、大まかな目安として $\alpha$ -アミラーゼ活性2.0以上では低アミロ小麦の危険性があり、3.0以上ではほぼ低アミロ小麦と推測される。

次に、Ceralpha法について、 $\alpha$ -アミラーゼ活性測定の自動化を検討した。手分析とオートアナライザーで測定された $\alpha$ -アミラーゼ活性との相関では $r = 0.975^{**}$  ( $n = 80$ )と高く、また $y = x$ とほぼ一致する回帰線が得られた(図II-7)。このようにオートアナライザーは手分析とほぼ同等の測定値が得られたことから、手分析に代替可能と結論された。これにより1時間当たり50点の多点自動測定が可能となった。

次に、オートアナライザーにより測定した $\alpha$ -アミラーゼ活性とアミロ値との相関を検討した結果、相関係数は $r = -0.906^{**}$ と高かった(図II-8)。品種間差については、チホクコムギとホロシリコムギで大きな分布の差は認められなかった。 $\alpha$ -アミラーゼ活性からアミロ値を推定する回帰式は、 $\ln$ アミロ値 $= -0.925$  ( $\ln$  $\alpha$ -アミラーゼ活性) $+ 10.95$ であった。この式から、アミロ値300 B.U.に相当する $\alpha$ -アミラーゼ活性は290mU/gであった(表II-2)。したがって、大まかな目安として、 $\alpha$ -アミラーゼ活性200mU/g以上では低アミロ小麦の危険性

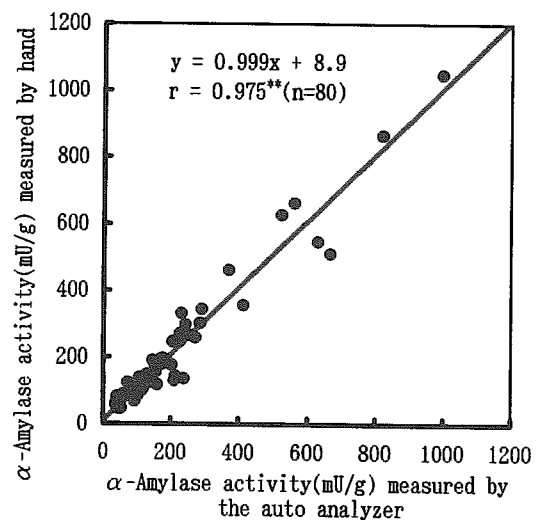
があり、400mU/g以上ではほぼ低アミロ小麦と推測される。

本研究で開発されたオートアナライザーによる $\alpha$ -ア

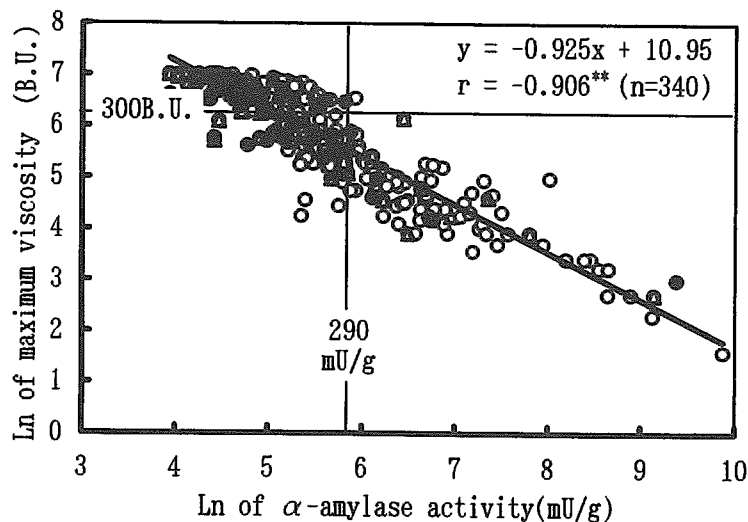
表II-1  $\alpha$ -amylase activity of ground wheat estimated from regression\* at each maximum viscosity.  $\alpha$ -Amylase activity is measured by improved blue starch method (incubation at 55°C, 5min).

Maximum viscosity (B.U.)	$\alpha$ -Amylase activity (ln Abs620)
600	1.64
500	1.93
400	2.28
300	2.73
200	3.37
100	4.46

\*:  $y = 1710e^{-0.637x}$



図II-7 Relationship between  $\alpha$ -amylase activity measured by hand and the auto analyzer using Ceralpha method. \*\*: Significant at 1% level.



図II-8 Relationship between  $\alpha$ -amylase activity of ground wheat and maximum viscosity. ○: Chihokukomugi, ●: Horosirikomugi, △: other lines and varieties. \*\*: Significant at 1% level.

ミラーゼ活性測定法は、試験研究の効率的推進のためのみならず、生産現場での品質管理にも適用可能である。すなわち、受け入れ乾燥施設において、トラック毎に小麦の $\alpha$ -アミラーゼ活性を簡易迅速に測定することにより、低アミロ小麦かどうかを判定し、仕分けするものである。この場合、測定対象は比較的水分の高い生麦であるが、これについても乾麦と同様にアミロ値との比較的高い相関が得られている<sup>65)</sup>。

最後に、 $\alpha$ -アミラーゼ活性におけるブルースターチ法とCeralpha法の相関を検討した結果、両者の分布はブルースターチ法の活性が5以上で大きく立ち上がる傾向が認められた(図Ⅱ-9)。そこで、試料を5以上と5未満に分けて、指数回帰により相関を検討した結果、ブルースターチ法の活性5未満においては $r=0.859^{**}$ の高い相関が得られ、回帰式は $y=0.0705e^{0.5265x}$ で示された。ブルースターチ法の活性5以上でも $r=0.962^{**}$ の高い相関が得られ、回帰式は $y=0.0188e^{0.8299x}$ で示された。この回帰式により、ブルースターチ法で測定された $\alpha$ -アミラーゼ活性(吸光度)はCeralpha法に読み替え、Unit表示が可能となった(表Ⅱ-3)。

表Ⅱ-2  $\alpha$ -Amylase activity of ground wheat estimated from regression\* at each maximum viscosity.  $\alpha$ -amylase activity is measured by Ceralpha method.

Maximum viscosity (B.U.)	$\alpha$ -Amylase activity (mU/g)
600	137
500	167
400	213
300	290
200	450
100	953

\* :  $\ln y = -0.925 \ln x + 10.95$

本研究では、オートアナライザー法が確立した後はこの方法によって $\alpha$ -アミラーゼ活性を測定したが、それ以前はブルースターチ法により測定した。ブルースターチ法の測定結果についても、混乱と煩雑さを避けるために、図Ⅱ-9中の式によりUnitに換算して表示した。

第2項 北海道における低アミロ小麦の発生実態

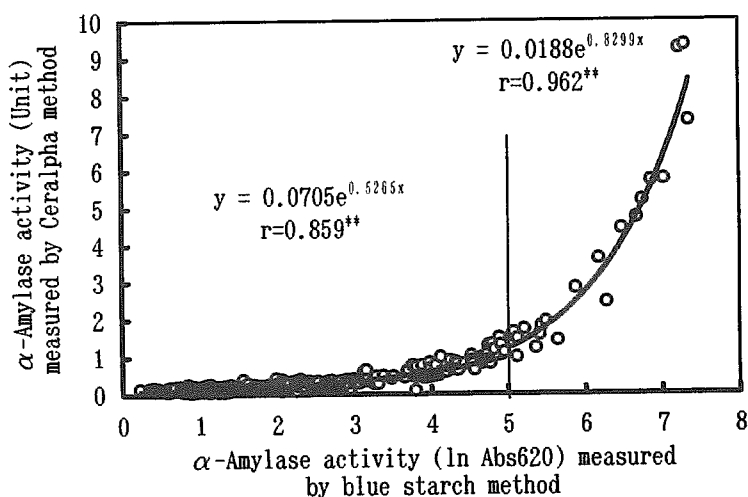
チホクコムギの収穫期アミロ値(B.U.)の全道平均は、1989年は877、1990年は825と高かったのに対して、1991年は465と低かった(図Ⅱ-10)。また、低アミロ小麦の発生率も1989年の0.3%、1990年の1.4%と比較して、1991年は39.0%と非常に高い割合を示した。1991年の支庁別の発生率は石狩、上川、空知は10%以下と低かったのに対して、網走は30%程度、十勝が60%以上と高く、道央地方が低く道東地方が高いという地域間差が認められた。

次に、低アミロ小麦の発生状況と気象条件との関係を検討した。すなわち、1989~1991年の空知支庁(岩見沢)と十勝支庁(帯広)の登熟後期から収穫期に当たる7月中~下旬の気象条件を比較した。その結果(表Ⅱ-4)、全道的に低アミロ小麦の発生が認められた1991年は1989

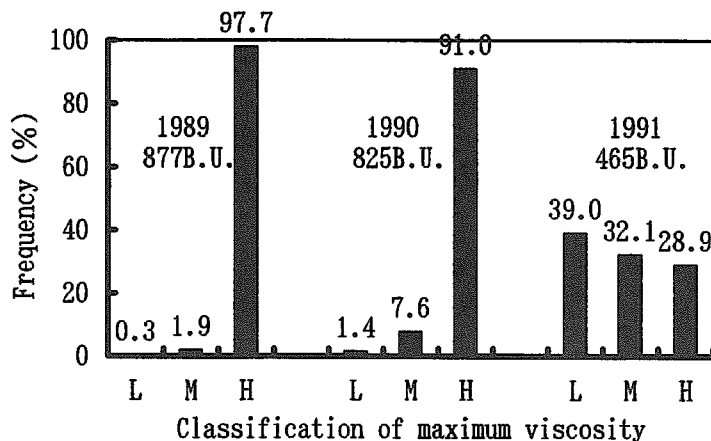
表Ⅱ-3  $\alpha$ -Amylase activity of Ceralpha method estimated from regression\* at each  $\alpha$ -amylase activity of blue starch method.

Blue starch method (ln Abs620)	Ceralpha method (mU/g)
5	981
4	579
3	342
2	202
1	119

\* :  $y = 0.0705e^{0.5265x}$



図Ⅱ-9 Relationship between  $\alpha$ -amylase activity of ground wheat measured by blue starch method and Ceralpha method. N = 337. \*\*: Significant at 1% level.



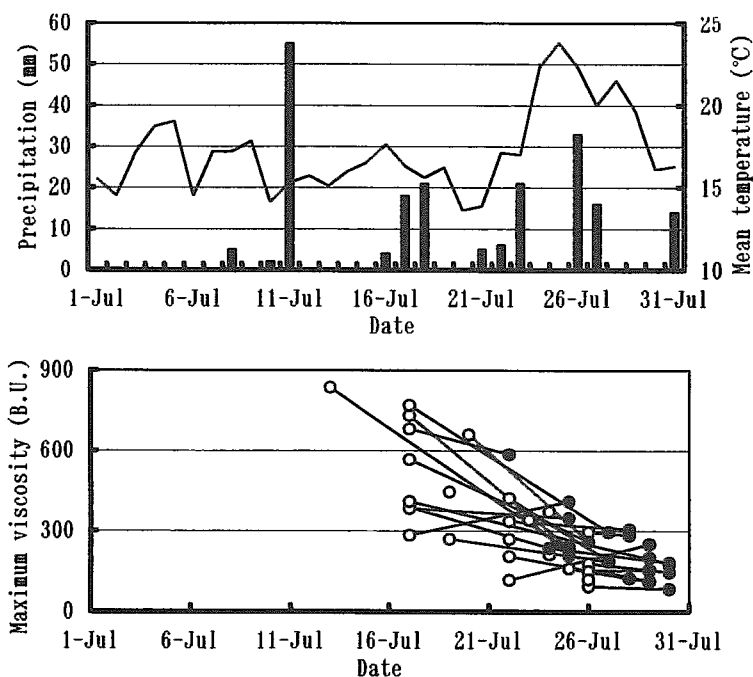
図Ⅱ-10 Frequency and mean values of maximum viscosity of wheat flour in Hokkaido from 1989 to 1991.  
L: under 300B.U., M: 300~600B.U., and H: over 600B.U.

表Ⅱ-4 Weather condition at Iwamizawa in Sorachi district and Obihiro in Tokachi district from 1st July to 20th July in 1989, 1990 and 1991.

District	1989	1990	1991
Mean temperature (°C)			
Sorachi	22.1	21.0	19.6
Tokachi	20.4	19.2	17.9
Sunshine hour (hr)			
Sorachi	128	138	88
Tokachi	69	80	54
Precipitation (mm)			
Sorachi	22	28	123
Tokachi	11	66	169

年, 1990年と比較して気温が低く, 日照時間が少なく, 降水量は多かった. 特に, 低アミロ小麦が多く発生した 1991年の十勝支庁においては, 低温寡照多雨であった.

さらに, 1991年十勝支庁の芽室町で経時的に採取した 試料を用いて, 気象条件とアミロ値との関係を検討した. その結果 (図Ⅱ-11), 全体的な傾向としてアミロ値は 採取時期が遅いほど低下していた. また, 7月20日以前 に成熟期に達した試料のアミロ値は比較的高かったが, その後の試料では成熟期においても低アミロ小麦の試料 が多数認められた. この間の気象条件は7月中~下旬に



図Ⅱ-11 Weather conditions and changes of maximum viscosity of flour sampled at maturing stage (○) and combine harvest stage (●) in individual 25 fields of Memurocho at 1991. Bar: precipitation, line: mean temperature.

全般に降雨が多く、平均気温も上～中旬に15℃前後と低温で推移していた。

成熟期時点で低アミロ小麦の発生が認められたことから、成熟期前10日間の気象条件とアミロ値との関係を検討した。ただし、降水量は正規分布しないことから、対数処理した降雨指数を用いた<sup>61)</sup>。その結果(表Ⅱ-5)、アミロ値と積算降雨指数とは $r = -0.633^{**}$  ( $n = 114$ )の高い負の相関が得られ、また平均気温とは $r = 0.367^{**}$ 、日照時間とは $r = 0.355^{**}$ の正の相関が認められた。すなわち、成熟期以前の気象条件が低温、寡照、多雨条件で成熟期のアミロ値が低下する傾向が認められた。

これまで、北海道の小麦品種は成熟期では休眠が維持されているために、 $\alpha$ -アミラーゼは発現しにくく、したがって低アミロ小麦の発生も少ないと考えられてきた<sup>95)</sup>。一方、府県においては成熟期前の降雨により成熟期付近で穂発芽し、低アミロ化する事例が認められている<sup>10, 30, 92)</sup>。しかし、本調査から北海道においても成熟期で低アミロ小麦が発生することが明らかとなった。このように成熟期で低アミロ小麦が発生したことには、穂発芽耐性が弱いとされているチホクコムギの品種特性<sup>11, 40)</sup>も影響していると考えられる。また、成熟期で低アミロ小麦が発生したのは十勝支庁管内で多かったことから、十勝特有の低温高温条件が影響している。

成熟期のアミロ値が比較的高い試料も、その後時間を経過すると大きく低下する事例が認められた。そこで、成熟期のアミロ値が比較的高い試料(500B.U.以上)について、その後のアミロ値の推移と気象条件との関係を検討した結果(表Ⅱ-6)、アミロ値と平均気温とは有為な

相関が認められなかったが、降雨指数とは $r = -0.517^{**}$  ( $n = 32$ )、日照時間とは $r = 0.364^*$ の相関が認められ、降雨が多く日照が少ないほどアミロ値は低下する傾向を示した。

次に、栽培条件とアミロ値との関係を検討した。すなわち、1990年の十勝、上川、1991年の十勝、上川、空知の各支庁で採取された試料について、栽培条件とアミロ値との相関を検討した(表Ⅱ-7)。窒素、リン酸、カリウムの各施肥量については、一部の年次、地帯で相関が認められたが、普遍的な傾向はみられなかった。しかし、窒素施肥法については、蛋白含有率や粉色に影響す

表Ⅱ-5 R value of regression between maximum viscosity at maturity and weather conditions at 10 days before maturity in 114 samples at 1991.

Item	r
Mean temperature (°C)	0.367**
Accumulated rainfall index*	-0.633**
Mean sunshine (hour/day)	0.355**

\* : Expressed by natural logarithm.

\*\* : Significant at 1% level.

表Ⅱ-6 R value of regression between maximum viscosity at combine harvest stage and weather conditions from maturity to harvest in 32 samples at 1991.

Item	r
Mean temperature (°C)	-0.018
Accumulated rainfall index*	-0.517**
Mean sunshine (hour/day)	0.364**

\* : Expressed by natural logarithm.

\*\* : Significant at 1% level.

表Ⅱ-7 Relationships between maximum viscosity and cultivation methods (chemical fertilizer application and date of sowing, date of maturity and date of harvest) in 1990 and 1991.

### 1. Chemical fertilizer application

Item	1990		1991		
	Tokachi	Kamikawa	Tokachi	Kamikawa	Sorachi
Number of sample	87	29	110	24	35
Basal application nitrogen	0.252*	-0.304	-0.087	-0.089	-0.094
Basal application phosphate	0.128	0.164	-0.196*	0.069	0.392*
Basal application potassium	-0.020	0.142	0.065	0.128	-0.227
Top-dressing nitrogen	0.032	0.378*	0.106	-0.091	0.294
Total nitrogen***	0.162	0.309	0.061	-0.132	0.233

### 2. Date of sowing, maturity and harvest

Item	1990		1991		
	Tokachi	Kamikawa	Tokachi	Kamikawa	Sorachi
Number of sample	87	29	110	24	35
Date of sowing	-0.208	-0.129	0.212*	-0.336	-0.516**
Date of maturity	-0.320*	0.025	-0.208*		-0.270
Date of harvest	-0.318**	0.261	-0.439**	-0.687**	-0.586**

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

\*\*\* : Basal nitrogen + top dressing nitrogen.

ることも指摘されている<sup>6, 13, 16, 82, 83)</sup>。ことから、この点については第5章で詳しく検討する。

播種期は1991年の空知支庁で有為な負の相関が認められたが、他の年次、地帯では判然としなかった。収穫期については、1990年の十勝支庁、1991年の3支庁でいずれも負の相関が認められ、収穫時期が遅いほど粘度は低下する傾向であった。また、沖積土、洪積土、乾性火山性土、湿性火山性土、泥炭土などの土壌タイプとアミロ値の関係を検討したが明らかな傾向はみられなかった。

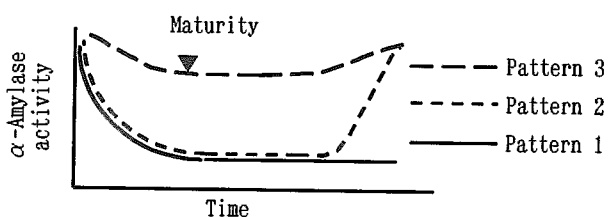
### 第3項 $\alpha$ -アミラーゼ活性推移の類型化と気象条件

8年間、3ヶ所の試験場において6品種を供試して $\alpha$ -アミラーゼ活性の推移を検討した結果、 $\alpha$ -アミラーゼ活性の推移は、品種間差および気象条件に大きく影響されていたが、およそ3つのパターンに類型化が可能であった<sup>14, 51)</sup> (図II-12)。そこで、1993年中央農試の北系1354、チホクコムギ、Lancerを例に子実水分、 $\alpha$ -アミラーゼ活性、穂発芽粒率、アミロ値の推移を示した(図II-13)。調査期間中の気象条件として、平均気温は18℃程度と平年(21℃程度)よりもやや低く、8月11日からは降雨が断続した。

北系1354においては、成熟期以前の $\alpha$ -アミラーゼ活性は400mU/g程度と高かったが、水分の減少とともに低下し、成熟期には100mU/g程度となり、その後も200mU/g以下を維持していた。このように $\alpha$ -アミラーゼ活性が全般に低かったために、アミロ値は700B.U.以上を維持していた。また、穂発芽の発生は極わずかであった。

チホクコムギの成熟期における活性は200mU/g以下で、アミロ値は600B.U.程度であったが、8月11日以降の降雨により水分の上昇とともに穂発芽粒率および $\alpha$ -アミラーゼ活性が高まった。これによりアミロ値が低下し、低アミロ小麦となった。すなわち、8月16日には穂発芽粒率が5.7%で、 $\alpha$ -アミラーゼ活性は900mU/g近くまで高まり、逆にアミロ値は200B.U.まで低下した。

Lancerは、成熟期に穂発芽が認められなかったにもかかわらず、 $\alpha$ -アミラーゼ活性は200mU/g以上と比較的



図II-12 Three patterns of  $\alpha$ -amylase activity changes near maturity.

高く維持され、アミロ値も成熟期以降200B.U.以下と低かった。

次に、成熟期の約2週間前(B)、成熟期(M)、成熟期の約2週間後(P)に採取された試料についてアイソザイム解析を行った(図II-14)。対照として泳動した発芽処理試料(C)は、発芽由来するモルト $\alpha$ -アミラーゼ(Amy-1)が高pI部に認められた。また、3品種とも、成熟期以前はグリーン $\alpha$ -アミラーゼが(Amy-2)が低pI部に活性が認められた。北系1354では低pI部の活性が成熟期以降に低下傾向であったが、チホクコムギにおいては低pI部の活性の他に、成熟期2週間後には高pI部に顕著な活性が認められた。Lancerにおいても低pI部の活性は成熟期以降も残存し、さらに成熟期で高pI部に活性が認められ、成熟期2週間後ではより明瞭な活性を示した。

さらに、同時期に採取された試料について、 $\alpha$ -アミラーゼの粒内分布を検討した(図II-15)。成熟期の約2週間前は3品種ともに胚乳部の活性が胚部より全般に高かったが、成熟期以降は品種間差が認められた。すなわち、北系1354は成熟期の2週間前は胚乳部が540mU/gと胚部の296mU/gより高かったが、成熟期で胚部、胚入部とも活性は150mU/g程度まで低下し、成熟期2週間後でも低活性を維持していた。

チホクコムギの成熟期2週間前は胚乳部が292mU/gと胚部の230mU/gよりやや高かった。成熟期では粒によるバラツキが認められたが、平均の活性は胚部と胚乳部ともに200mU/g以下であった。成熟期の約2週間後では胚部に高活性を示す粒が認められ、胚部の平均活性は265mU/g胚乳部の197mU/gより高かった。

Lancerの成熟期2週間前では北系1354、チホクコムギより全般に活性は高く、時に胚乳部が699mU/gと胚部の393mU/gより高かった。成熟期でも胚部、胚乳部ともに全般に活性は高く、胚部が339mU/g、胚乳部は301mU/gであった。成熟期の約2週間後では胚部が358mU/g、胚乳部が384mU/gとやや高まっていた。

以上のことから、各パターンについて、 $\alpha$ -アミラーゼ活性の存在部位、アイソザイムの推移を含めて考察すると(図II-12)、パターン1では、成熟期前に低pIの $\alpha$ -アミラーゼ(Amy-2)は胚乳部に多く存在するが、水分の低下とともに消失し、成熟期では活性は200mU/g以下となり、その後も気象条件が良好な場合は低い値を維持する。

8カ年、3試験場における各品種の推移を3つのパターンに分類した結果(表II-8)、パターン1には56事例中22例(39%)が含まれ、穂発芽耐性の強い北系1354

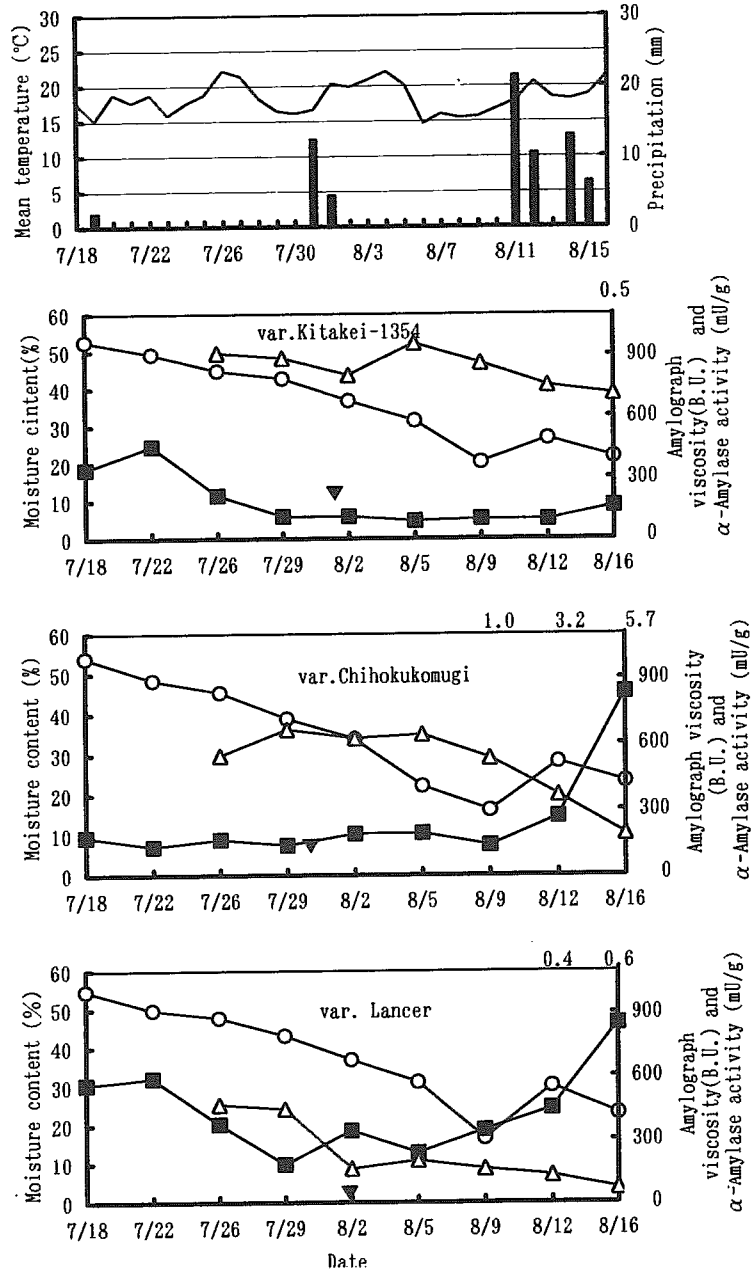


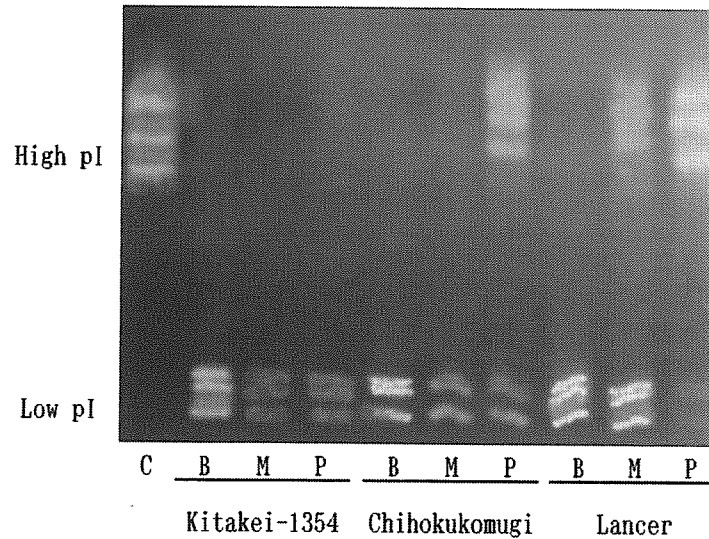
図 Ⅱ-13 Wather conditions (mean temperature : line, precipitation : bar) and changes in ear moisture content (○),  $\alpha$ -amylase activity (■) and amylograph viscosity (△) of Kitakei-1354, Chihokukumugi and Lancer at the Central Agricultural Experiment Station in 1993. The number at top of graph shows germination percentage (%). ▼Indicate maturity.

で多く認められ、また、耐性の弱いチホクコムギでも、気象条件が良好であった場合には、このパターンを示した。

パターン 2 も成熟期までの  $\alpha$ -アミラーゼ活性の推移はパターン 1 と同様であるが、成熟期以降の推移が異なる。すなわち、成熟期以降に降雨に遭い休眠が打破されると穂発芽が発生するとともに、 $\alpha$ -アミラーゼが発現しアミロ値が低下する。この場合、発芽とともに高pIの  $\alpha$ -アミラーゼ (Amy-1) が胚部に発現する。このパタ

ーンは、成熟期以降の降雨を引き金として穂発芽が発生した場合にはよく見られるものであり、調査事例中50%がこれに含まれていた。

以上の二つのパターンは従来からよく知られている推移で、パターン 1 とパターン 2 の相違は成熟期以降における穂発芽発生の有無である。穂発芽の発生には、成熟期以降の気象条件と品種の穂発芽耐性が大きく影響する。したがって、このタイプの低アミロ小麦発生を回避するためには、降雨の影響を避けるために成熟期後でき



図Ⅱ-14 Electrophoresis pattern on isozymes of  $\alpha$ -amylase in Kitakei-1354, Chihokukomugi and Lancer grown in field and harvested at 2 weeks before maturity (B), at maturity (M) and at 2 weeks post maturity (P). Control (C) : grains germinated for 2 days.

るだけ速やかに収穫するか，穂発芽耐性品種の開発が有効である。

これらのパターンと異なり，子実水分の低下にもかかわらず， $\alpha$ -アミラーゼ活性が低下せず，成熟期前後に全般に高く維持される推移がパターン3である。このパターンはLancerの5例のほか1988年十勝農試のチホクコムギで認められている。そこで，1988年十勝農試の成熟期前後の気象条件と $\alpha$ -アミラーゼ活性，穂発芽粒率の推移を示した（図Ⅱ-16）。成熟期前から7月中の平均気温は15℃程度と低かった。また，日照はほとんどなく，降雨としては記録されなかったが，全般に低温高湿傾向で推移し，さらに8月12日から3日間で計65mmの降雨が認められた。

成熟期付近の $\alpha$ -アミラーゼ活性は300mU/g程度と全般に高く，一方，穂発芽粒率は1%以下とほとんど認め

られなかった。8月8，11日では200mU/g程度までいったん低下したが，その後の降雨により穂発芽が16.5%発生するとともに $\alpha$ -アミラーゼ活性も1,200mU/gに達した。

チホクコムギが成熟期で既に低アミロ化している事例については，前項の発生実態調査でも複数例が認められている。チホクコムギの場合，穂発芽がほとんど認められない事例と，認められる事例がある。チホクコムギがこの推移を示すことについては，穂発芽耐性が弱いことと成熟期前の低温高湿条件が影響していると考えられる。

一方Lancerは，成熟期でほとんど穂発芽が認められないにもかかわらず，胚部で高pIの $\alpha$ -アミラーゼ（Amy-1）が認められることが特異な点である。さらに，Lancerの穂発芽耐性はチホクコムギよりも強く，第4章で示す

表Ⅱ-8 Pattern of  $\alpha$ -amylase activity in cultivars grown at different locations from 1988 to 1995.

Year	Agricultural Experiment Station	Chihokukomugi	Horoshirikomugi	Hokushin	Kitakei-1354	Lancer	Satanta
1988	Tokachi	3	2		1	3	2
	Kitami	1	1		1	1	1
1989	Tokachi	1	1		1	1	1
	Kitami	2	2		1	2	2
1990	Tokachi	2	2		1	2	2
	Central	1	1		1	1	1
1991	Central	2	2	2	1	3	2
1992	Central	2	2		2	3	2
1993	Central	2	2	2	1	3	2
1994	Central	2	2	2	1		
1995	Central	2	2	2	1	3	



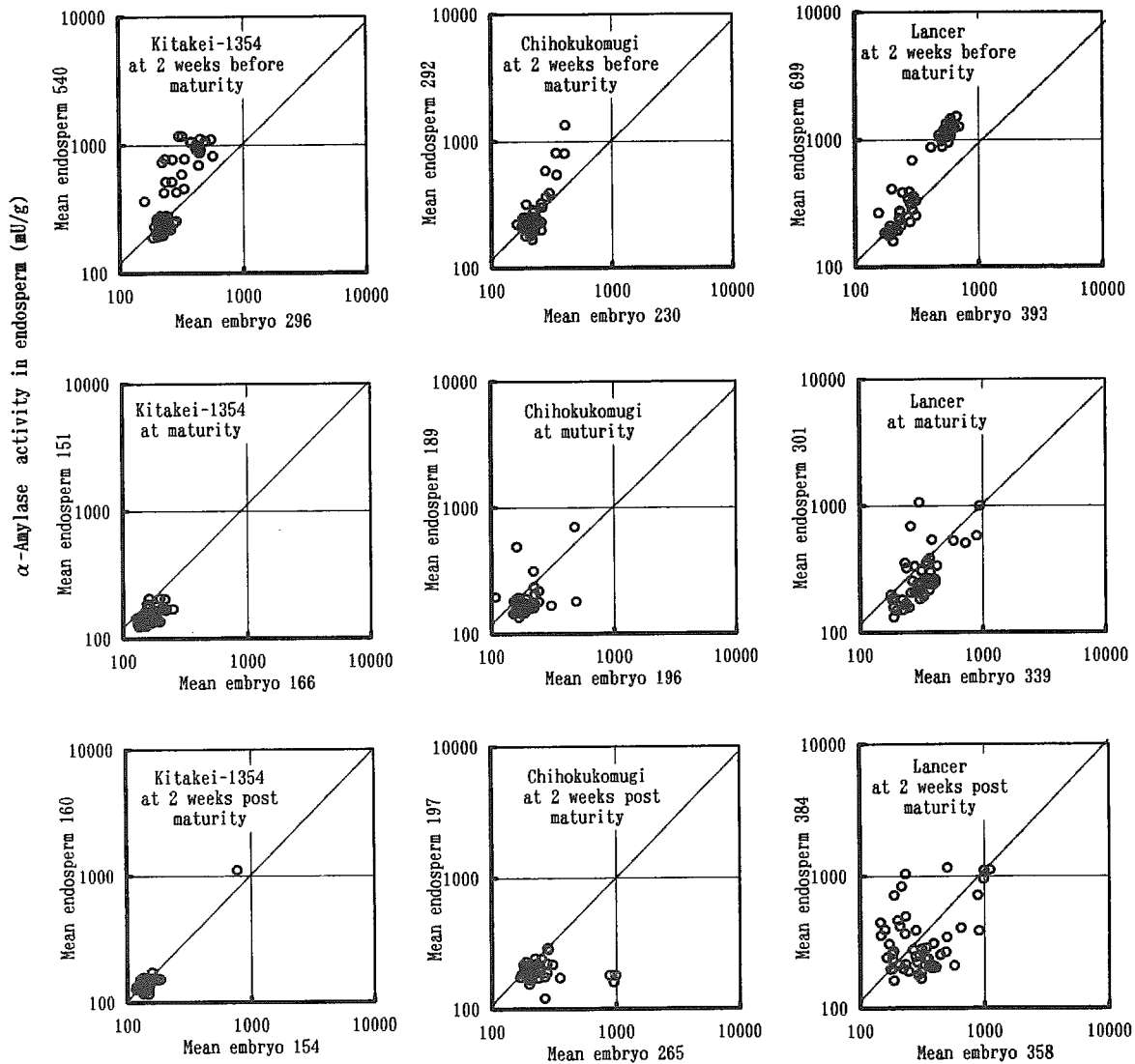


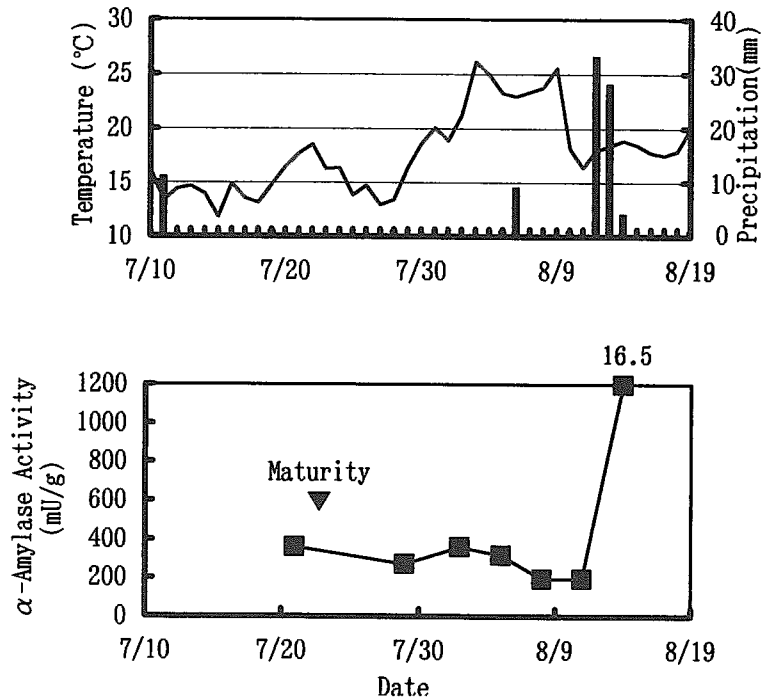
図 15 Relationship of  $\alpha$ -amylase activity (mU/g) between embryo and endosperm in 50 grains sampled at 2 weeks before maturity, at maturity and at 2 weeks post maturity in Kitakei-1354, Chihokukomugi and Lancer grown at Central Agricultural Experiment Station in 1993. The numbers of mean embryo and mean endosperm on x and y axes show mean activity (mU/g) of 50 grains.

ようにSatantaや北系1354と同程度と評価されること<sup>50, 95)</sup>。また、1993年中央農試のように成熟期前の気象条件が比較的良好でも高 $\alpha$ -アミラーゼ活性を示す点がチホクコムギとは異なっている。したがって、同じパター3でも、Lancerとチホクコムギでは別の機作が影響していると示唆され、これらについては次章で検討を加える。

#### 第4節 要約

1989~1991年に全道からチホクコムギ1,709点を採取し、低アミロ小麦の発生実態を把握するとともに、発生に及ぼす要因を解析した。その結果、低アミロ小麦発生率は1989年0.3%、1990年1.4%とわずかであったが、1991年

では39.0%と高かった。低アミロ小麦が多く発生したのは十勝、網走支庁の道東地方で、逆に少なかったのは石狩、上川、空知支庁の道央地方であった。成熟期以前の気象条件は、低アミロ小麦の発生を大きく左右し、低温多雨ではアミロ値が低下し、成熟期時点で既に低アミロ小麦が発生した。成熟期以降の気象条件については、収穫までの時間が経過するほど、また降雨が多く日照時間が少ないほど、アミロ値が低下した。栽培条件との関係では収穫時期が大きく影響し、刈取り時期が遅いほどアミロ値は低下していた。しかし、播種時期、窒素、リン酸、カリウムの施肥量、土壌タイプとアミロ値との関係については判然としなかった。



図Ⅱ-16 Wather conditions and changes of  $\alpha$ -amylase activity of Chihokukomugi at Tokachi Agricultural Experiment station in 1988. Bar : precipitation, line : mean temperature. The number at top of graph shows germination percentage (%).

次に北海道における低アミロ小麦の発生様式を類型化するために、成熟期前後の $\alpha$ -アミラーゼ活性の推移を検討した結果、その推移は気象条件および品種により変動するがおよそ3つに類型化された。

パターン1：成熟期前は胚乳部で低pIのグリーン $\alpha$ -アミラーゼ (Amy-2) が高活性を示すが、成熟期にはほぼ低下しその後も低く維持される。この場合、低アミロ小麦は発生しない。穂発芽耐性の強い北系1354で多く認められ、また耐性の弱いチホクコムギでも気象条件が良好であった場合に認められた。

パターン2：成熟期以降に降雨に遭うと粒の水分が上昇し、穂発芽が発生するとともに、主として胚部で高pIのモルト $\alpha$ -アミラーゼ (Amy-1) が活性化する。穂発芽とともに低アミロ小麦が発生する一般的によく観察さ

れるパターンである。

パターン3：水分の低下にもかかわらず、成熟期前後に $\alpha$ -アミラーゼ活性が比較的高く維持され、低アミロ小麦となる。穂発芽がほとんど認められない場合と、わずかに認められる場合がある。チホクコムギとLancerでこのパターンが認められた。

このように、低アミロ小麦の発生原因として、成熟期以降の穂発芽による場合 (パターン2) と、成熟期前後に $\alpha$ -アミラーゼ活性が高く維持される場合 (パターン3) の2つのパターンが認められた。パターン2による低アミロ小麦の発生には成熟期以降の気象条件、特に降雨の有無と品種の穂発芽耐性が大きく関すると思われる。一方、パターン3については不明な点が多いため、次章でさらに検討する。

### 第3章 低アミロ小麦の発生要因の解析

#### 第1節 緒言

前章の結果から、低アミロ小麦の発生には成熟期前後の気象条件が大きく影響するとともに、品種間差が存在することが明らかとなった。そこで、本章ではこれら気象条件の影響と品種間差をさらに検討する。

前章で認められた、成熟期で高い $\alpha$ -アミラーゼ活性を示す事例（パターン3）は特異な推移といえるが、同様な事例は海外でも知られており、登熟期の気温や湿度などの気象条件が影響することや、発生に品種間差があることが報告されている<sup>7, 8, 9, 25, 35, 36, 42)</sup>。しかし、北海道において成熟期の $\alpha$ -アミラーゼの発現を誘導する気象条件や、品種間差に関する検討事例は少ない。そこで、登熟期の気象条件（気温および湿度）が成熟期の $\alpha$ -アミラーゼ活性およびそのアイソザイムの発現に及ぼす影響を検討した。

成熟期以降の穂発芽を伴う $\alpha$ -アミラーゼの発現（パターン2）については、降雨を主とした気象条件が大きく影響する。そこで、成熟期以降の降雨時期と降雨期間が穂発芽と $\alpha$ -アミラーゼの発現に及ぼす影響を検討した。さらに降雨時の温度条件の影響についても検討した。

一方、穂発芽の発生には子実による吸水過程が不可欠である<sup>66)</sup>。したがって、吸水時間や吸水量は穂発芽の発生に影響を及ぼす重要な要因と考えられる<sup>10, 27, 28, 38)</sup>。しかし、道内の小麦品種についてこれらに関する検討例は少

なく、品種間差も明らかにされていない。そこで異なる子実水分および吸水時間が発芽および $\alpha$ -アミラーゼ活性に及ぼす影響を解析した。

#### 第2節 実験材料および方法

##### 第1項 登熟期の気象変動条件

###### 1. 供試材料

1994年および1995年に中央農試場内において、チホクコムギ、北系1354、Lancerの越冬株をワグネルポット（1/5,000a）に移植し、登熟期の気象処理に供試した。

###### 2. 気象処理

1994年は人工気象室を用いて、対照区（高温低湿）と低温湿潤処理区を設けた。対照区は昼間25℃、夜間15℃で無加湿とし、低温湿潤処理区は昼間20℃、夜間10℃で加湿器により湿度をほぼ100%に保った。各品種の開花期に全ポット試料を対照の人工気象室に移動し、早期（開花約2週間後）、中期（同約3週間後）、晚期（同4週間後）に低温湿潤処理の人工気象室に移動し、成熟期まで処理を継続した（表Ⅲ-1）。

1995年は対照区をビニールハウス内に設定した。登熟期間中の平均気温は約22℃であった。また、低温処理の設定温度は前年と同様に昼間20℃、夜間10℃であったが、加湿条件は前年よりも緩和し、穂が濡れない程度（湿度80~100%）の高湿処理とした。また、低温高湿処理の

表Ⅲ-1 Weather treatment on plants grown in pot at repening stage in 1994.

Variety (Anthesis)	Wather treatment	Cool and wet period*	
		Calendar day	Days post anthesis
Chihokukomugi (10-Jun)	Warm and dry**	—	—
	Early cool and wet***	From 24-Jun to 19-Jul	14-39
	Middle cool and wet	From 1-Jul to 17-Jul	21-37
	Late cool and wet	From 8-Jul to 13-Jul	28-33
Kitakei-1354 (12-Jun)	Warm and dry**	—	—
	Early cool and wet***	From 24-Jun to 27-Jul	12-45
	Middle cool and wet	From 1-Jul to 19-Jul	19-37
	Late cool and wet	From 10-Jul to 15-Jul	28-33
Lancer (14-Jun)	Warm and dry**	—	—
	Early cool and wet***	From 24-Jun to 27-Jul	10-43
	Middle cool and wet	From 1-Jul to 19-Jul	17-35
	Late cool and wet	From 12-Jul to 15-Jul	28-31

\* All post were moved to warm and dry conditions at anthesis. Some post remained under warm and dry conditions as controls, while the others were moved to a cool and wet cabinet at the early, middle or late stages of ripening where they remained until maturity. \*\* Warm and dry : artificial weather cabinet with a temperature of 25℃ during the day time and 15℃ at night time and no humidification. \*\*\* Cool and wet : artificial weather cabinet with a temperature of 20℃ during day time and 10℃ at night time with almost 100% relative humidity.

期間も前年とは異なり、継続処理ではなく1週間だけの短期処理とした。すなわち、各品種の開花期に全ポット試料を対照のビニールハウスに移し、開花の2, 3, 4週間後から1週間だけ、人工気象室に移動して低温高湿処理を行い、処理後は再びビニールハウスに戻した(表Ⅲ-2)。

### 3. 調査, 分析方法

各ポット試料の成熟期に穂を収穫し、乾燥、脱穀した子実について、発芽率の調査、 $\alpha$ -アマラーゼ活性の測定およびアイソザイム解析を実施した。

## 第2項 成熟期以降の降雨処理方法

1. 試験年次, 試験圃場, 供試品種: 1991~1995年, 中央農試および十勝農試, チホクコムギ。
2. 降雨処理前の気象条件:
  - ① 圃場における自然降雨条件。
  - ② 登熟中期から圃場の一部を雨よけビニールハウスで覆った無降雨条件(1991, 1992年の中央農試で実施)。
3. 降雨処理条件: 圃場から採取された穂をバットに立て、散水あるいは細霧により穂を湿潤状態に保った。
4. 降雨処理開始時期: 成熟期直後, 成熟期の約1週間後, 成熟期の約2週間後。
5. 降雨処理期間: 0, 1, 2, 3, 4日。
6. 降雨処理時の温度条件: 1991年の中央農試においては人工気象室を用いて15, 20, 25℃の3温度を設定した。他の年次, 試験地においては平均気温を17~20℃とした。
7. 調査項目: 穂発芽粒率,  $\alpha$ -アマラーゼ活性。

## 第3項 子実に対する吸水処理条件

1. 供試品種: チホクコムギ, ホロシリコムギおよび北系1354。
2. 試料の調製: 1994年7月下旬の成熟期に, 中央農試場内圃場から小麦を収穫し, ガラス室で乾燥後, 脱穀した。得られた子実について, 休眠の完全な消失と子実水分の均一化を図るために, ビニール袋に密封し5℃の冷蔵庫中で約4ヶ月保存し, 加水処理に供した。
3. 加水処理: 異なる子実水分の試料群を作出するために, 個々の子実に異なる量の脱塩水を吸水させた。すなわち, 子実80粒を1粒ずつ秤量し試験管に入れ, 子実水分が20~45%に変化するようになり, マイクロピペットにより5~30 $\mu$ Lの脱塩水を付着させ, ゴム栓により密封し, 17℃の恒温器中で吸水させた。24時間後に, 試験管から子実を取り出し重量を測定した。72時間吸水についても同様に処理し, 得られた子実試料について, 発芽率の調査および $\alpha$ -アマラーゼ活性の測定を実施した。
4. 子実水分の算出: 通常, 小麦子実の水分は乾燥前の重量と乾燥後の重量の差から算出されるが, この方法では高温により $\alpha$ -アマラーゼ活性が失活するため, 同一子実で水分と $\alpha$ -アマラーゼ活性の両者を測定することは困難である。そこで, 本試験では試料を二分し, 加水処理前の子実20粒の水分を130℃, 16時間乾燥法により求め, その平均水分から吸水後の子実水分を以下の計算式により算出した。水分(%) =  $\frac{\text{吸水後の重量} - \text{処理前の重量} \times (1 - \text{処理前の平均子実水分} / 100)}{\text{吸水後の重量}} \times 100$ 。
5. 発芽程度: 以下の基準により判定し分類した。I:

表Ⅲ-2 Weather treatment on plants grown in pot at ripening stage in 1995.

Variety (Anthesis)	Weather treatment	Cool and humid period*	
		Calendar day	Days post anthesis
Chicokukomugi (18-Jun)	Hot and dry**	—	—
	Early cool and humid***	From 3-Jul to 10-Jul	14-21
	Middle cool and humid	From 10-Jul to 17-Jul	21-28
	Late cool and humid	From 17-Jul to 24-Jul	28-35
Kitakei-1354 (17-Jun)	Hot and dry**	—	—
	Early cool and humid***	From 1-Jul to 8-Jul	14-21
	Middle cool and humid	From 8-Jul to 15-Jul	21-28
	Late cool and humid	From 15-Jul to 22-Jul	28-35
Lancer (19-Jun)	Hot and dry**	—	—
	Early cool and humid***	From 3-Jul to 10-Jul	14-21
	Middle cool and humid	From 10-Jul to 17-Jul	21-28
	Late cool and humid	From 17-Jul to 24-Jul	28-35

\* All post were moved to hot and dry conditions at anthesis. Some post remained under hot and dry conditions as controls, while the others were moved to a cool and humid cabinet at the early, middle or late stages of ripening where they remained for one week. Thereafter, they were moved to the hot and dry conditions where they remained until maturity. \*\* Hot and dry: vinyl house with a mean temperature of 22℃ and no humidification. \*\*\* Cool and humid: artificial weather cabinet with a temperature of 20℃ during day time and 10℃ at night time with 80-100% relative humidity.

発芽の兆候が認められない子実。Ⅱ：胚の部分の皮が縦に開いた子実（芽切り粒）。Ⅲ：幼根の伸長が認められる子実（発根粒）。

第4項 吸水速度の品種比較

1. 供試品種：チホクコムギ、ホロシリコムギおよび北系1354。
2. 供試試料：成熟期の約10日後に採取された穂および脱穀子実。
3. 子実の加水処理：子実をシール付きのビニール袋にとり十分量の水を加えた後、17℃の恒温器で吸水させた。処理開始3、6、12、24、48時間後に試料を採取し、一部の試料により水分を測定するとともに発芽程度の調査およびα-アミラーゼ活性の測定を実施した。
4. 穂の加水処理：穂をバットに立て、加水処理（人工

気象室、17℃、連続降雨）を行い、処理開始3、6、12、24、48、72時間後に穂試料を採取し、脱穀後得られた子実について子実水分、発芽程度、α-アミラーゼ活性を調査した。

第3節 実験結果および考察

第1項 登熟期の気象変動と成熟期のα-アミラーゼ活性

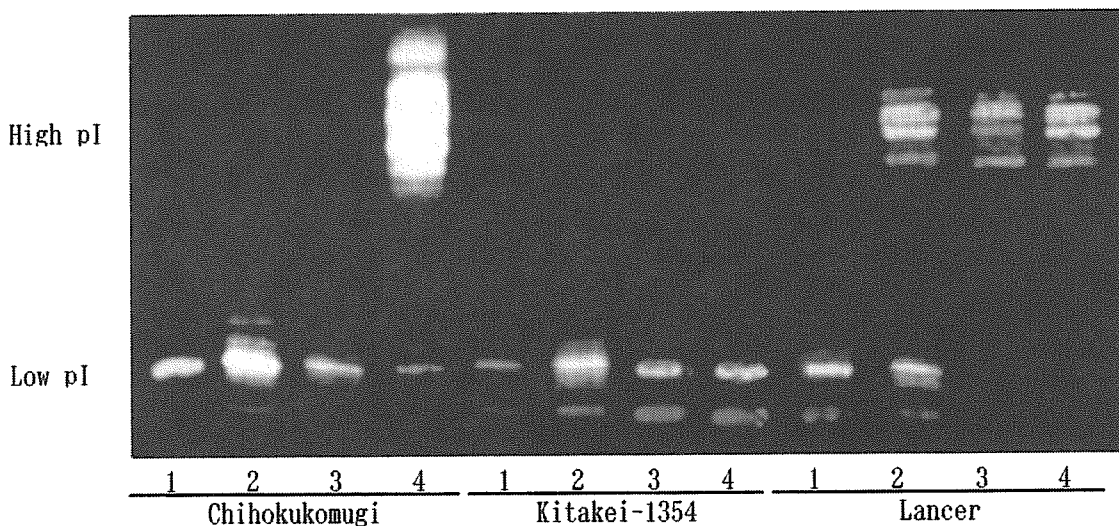
1994年、対照区のチホクコムギに発芽粒は認められず、α-アミラーゼ活性も166mU/gと低かった（表Ⅲ-3）。早期からの低温湿潤処理で発芽粒は認められなかったが活性は337mU/gと高く、中期からの処理でも活性は239mU/gとやや高かった。晩期処理では発芽粒が10.4%と高い比率で認められ、α-アミラーゼ活性も662mU/gと高かった。

北系1354ではいずれの処理でも発芽は認められなかつ

表Ⅲ-3 Effects of weather treatment at ripening stage on germination and α-amylase activity in grain at maturity in 1994.

Variety (Anthesis)	Weather treatment*	Maturity	Germination (%)	α-Amylase activity (mU/g)
Chihokukomugi (10-Jun)	Warm and dry	11-Jul	0.0	166
	Early cool and wet	19-Jul	0.0	337
	Middle cool and wet	17-Jul	0.0	239
	Late cool and wet	13-Jul	10.4	662
Kitakei-1354 (12-Jun)	Warm and dry	16-Jul	0.0	132
	Early cool and wet	27-Jul	0.0	231
	Middle cool and wet	19-Jul	0.0	151
	Late cool and wet	15-Jul	0.0	225
Lancer (14-Jun)	Warm and dry	13-Jul	0.0	224
	Early cool and wet	27-Jul	0.0	417
	Middle cool and wet	19-Jul	0.0	307
	Late cool and wet	15-Jul	0.5	834

\* See Table Ⅲ-1 for treatments.



図Ⅲ-1 Electrophoresis pattern on isozymes of α-amylase in Chihokukomugi, Kitakei-1354 and Lancer grain ripened under various weather conditions in 1994. 1: Warm and dry; 2: early cool and wet; 3: middle cool and wet; 4: late cool and wet. See Table Ⅲ-1 for treatments.

た。α-アミラーゼ活性は対照区で132mU/gと低く、低温湿潤区においても、前期からの処理が231mU/g、中期からの処理が151mU/g、晩期処理が225mU/gで全般に低かった。

Lancerは対照区で発芽は認められなかったが、α-アミラーゼ活性が224mU/gとチホクコムギや北系1354の対照区と比較してやや高かった。また、発芽粒は晩期処理で0.5%認められただけであったが、α-アミラーゼ活性は早期からの処理で417mU/g、中期からの処理で307mU/g、晩期処理で834mU/gと高く、特に晩期処理の活性の高まりが顕著であった。

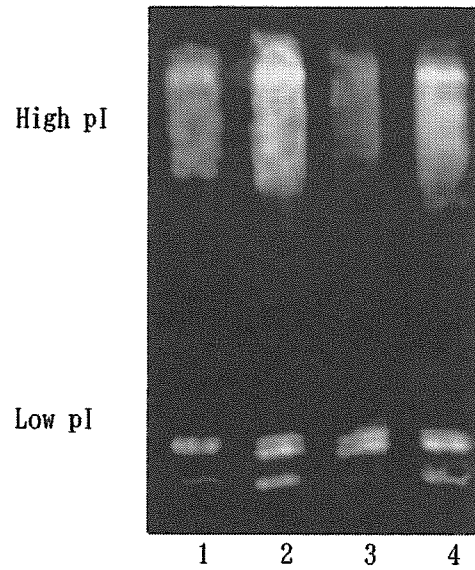
α-アミラーゼアイソザイムを解析した結果（図Ⅲ-1）、チホクコムギの対照区では低pI部にのみ活性が検出され、早期および中期からの処理においても同様に低pI部に活性が検出された。晩期処理では低pI部とともに高pI部に活性が検出された。北系1354においてはいずれの処理においても、低pI部にのみ検出された。Lancerでは対照区では低pI部のみが検出されたが、早期処理区では低pI部とともに高pI部に活性が検出され、中期、晩期の処理では高pI部のアイソザイムが主として検出された。

1995年については、いずれの品種および処理においても発芽は認められなかったが、α-アミラーゼ活性には品種間および処理間の差が認められた（表Ⅲ-4）。チホクコムギの対照区のα-アミラーゼ活性は168mU/gと低かったが、早期および中期の低温高湿処理では276、275mU/gと高く、晩期処理では192mU/gと低かった。北系1354では対照区で130mU/g、前期からの低温高湿処理が144mU/g、中期からの処理が160mU/g、晩期処理が140mU/gで全般に低かった。Lancerでは対照区でα-アミラーゼ活性が436mU/gとチホクコムギや北系1354と比較して高く、また前期からの低温高湿処理が472mU/g、中期からの処理が394mU/g、晩期処理が592mU/gで、

いずれの時期の処理でも高かった。また、Lancerのα-アミラーゼアイソザイムを解析した結果、いずれの処理においても、低pI部とともに高pI部に活性が検出された（図Ⅲ-2）。

以上のように、登熟期の気象条件が成熟期のα-アミラーゼ活性に及ぼす影響を、人工気象室を用いて解析した結果、同一気象条件でも品種によりα-アミラーゼ活性の発現程度やそのアイソザイムに相違が認められた。

小麦のα-アミラーゼ活性が高まる要因について、Kettlewell<sup>29</sup>やLunn<sup>30</sup>らは以下の4つ可能性を指摘している。①登熟期に発現しているAmy-2のα-アミラーゼが成熟期まで残存する場合（Retention of pericarp α-amylase : RPA）。②発芽が認められないのにAmy-1を主としたα-



図Ⅲ-2 Electrophoresis pattern on isozymes of α-amylase in Lancer grain ripened under various weather conditions in 1995. 1: Hot and dry; 2: early cool and humid; 3: middle cool and humid; 4: late cool and humid. See TableⅢ-2 for treatments.

表Ⅲ-4 Effects of weather treatment at ripening stage on germination and α-amylase activity in grain at maturity in 1995.

Variety (Anthesis)	Weather treatment*	Maturity	Germination (%)	α-Amylase activity (mU/g)
Chihokukomugi (18-Jun)	Hot and dry	21-Jul	0.0	168
	Early cool and humid	21-Jul	0.0	276
	Middle cool and humid	21-Jul	0.0	275
	Late cool and humid	26-Jul	0.0	192
Kitakei-354 (17-Jun)	Hot and dry	21-Jul	0.0	130
	Early cool and humid	22-Jul	0.0	144
	Middle cool and humid	22-Jul	0.0	160
	Late cool and humid	24-Jul	0.0	140
Lancer (19-Jun)	Hot and dry	19-Jul	0.0	436
	Early cool and humid	22-Jul	0.0	472
	Middle cool and humid	22-Jul	0.0	394
	Late cool and humid	28-Jul	0.0	592

\* See TableⅢ-2 for treatments.

アミラーゼが高活性を示す場合 (Pre-maturity  $\alpha$ -amylase : PMAA). ③成熟期前にもかかわらず発芽し高活性が発現している場合 (Pre-maturity sprouting  $\alpha$ -amylase : PrMS). ④成熟期以降に発芽とともに活性が発現する場合 (Post-maturity sprouting  $\alpha$ -amylase : PoMS). ③, ④のパターンでは, 最初にAmy-1が多く発現し, その後Amy-2も発現してくる.

そこで, 本試験結果をこれら4タイプと比較, 対照した. 1994年のチホクコムギは早期~中期から成熟期までの低温湿潤条件により, 成熟期で発芽は認められないが $\alpha$ -アミラーゼ活性はやや高まった. 1995年は1週間だけの処理であったが, 早期~中期の低温高湿処理により同様に活性はやや高まった. さらに, これらのアイソザイムを解析した結果, 発芽に由来する高pI部のAmy-1は検出されず, 登熟期から発現している低pI部のAmy-2のみが検出された. このように, チホクコムギで開花2~3週間後の低温高湿条件により誘導される $\alpha$ -アミラーゼは, 登熟期間中に発現しているAmy-2が残存したと推測され, ①のRPAに該当すると思われる (表Ⅲ-5).

成熟期直前の低温加湿処理に対するチホクコムギの反応は2ヶ年で傾向が異なり, 1994年は発芽を伴って $\alpha$ -アミラーゼが大きく活性化していたが, 1995年は発芽は認められず $\alpha$ -アミラーゼの活性化程度も小さかった. この相違について, 2ヶ年の加湿条件が影響していると推測される. すなわち, 1995年は湿度が80~100%とやや低かったのに対して, 1994年は穂が濡れる程度まで加湿されていた. 1994年はこの湿潤条件により子実が高水分状態に保たれ, 成熟期で発芽が認められるとともにAmy-1が大きく活性化したものと思われる.

このように, チホクコムギで成熟期の直前の低温湿潤条件により, 高 $\alpha$ -アミラーゼ活性が発現した事例については, 発芽の発生とAmy-1が主として認められたことから, ③のPrMSに該当すると思われる. 前章の実態調査で, チホクコムギでは成熟期で低アミロ化する事例が認められ, これには成熟期前の低温高湿条件が影響していると考えられたが, 本試験でそれが実証された.

十勝地方においてチホクコムギの $\alpha$ -アミラーゼ活性が

成熟期前後に高く維持される事例<sup>57, 61, 63)</sup>については, 成熟期に発芽が認められる場合と, ほとんど認められない場合がある. また,  $\alpha$ -アミラーゼアイソザイムについてもAmy-1とAmy-2の両者が検出される事例が多い. すなわち, チホクコムギは開花2~3週間後から低温高湿条件が連続した場合にAmy-2が残存しやすく, さらに成熟期直前の降雨により発芽とともにAmy-1が発現すると推測される. したがって, このような推移においては, RPAとPrMSの両タイプの峻別は困難であり, 両者の複合型といえる.

次にLancerについて検討すると, 1994年は対照区の活性は224mU/gで, Amy-1は認められなかった. しかし, 低温湿潤処理区においてはいずれの時期でも, 発芽はほとんど認められなかったが,  $\alpha$ -アミラーゼ活性は全般に高くAmy-1が認められた. このようにLancerは発芽が認められなかったにもかかわらず, Amy-1による $\alpha$ -アミラーゼが高活性を示したことから, ②のPMAAに該当すると思われる.

PMAAを誘引する気象条件については海外でいくつかの報告があり, MaresとGale<sup>40)</sup>はオーストラリアにおいて高温低湿下でPMAAが発現すると報告している. また, Major<sup>36)</sup>は登熟中に高温期を経験するとPMAAがより誘導しやすくなると指摘しているが, 明瞭な結論は得られていない.

本研究のLancerでは, 1994年は低温高湿処理区でPMAAの発現が認められたが, 1995年では高温低湿の対照区でも低温高湿処理と同様にPMAAを示した. Lancerについては, 圃場栽培でもPMAA現象が複数年にわたって観察され, この場合, 登熟期の気象条件が比較的高温低湿でも発現が認められている. このように, 様々な気象条件下でPMAAを発現しやすいことがLancerの特徴といえる.

一方, PMAAが発現しなかったのは1994年の対照区 (昼間25℃, 夜間15℃で無加湿の人工気象室) だけであったことから, 比較的変動の少ない気象条件下ではPMAAの発現が抑えられ, 気象変動が大きいとPMAAが誘導されるのかもしれない.

表Ⅲ-5 Characteristics of  $\alpha$ -amylase in grain at maturity with respect to weather conditions at ripening stage.

Variety	$\alpha$ -Amylase activity	Type*	Weather conditions at ripening stage
Chihokukomugi	Relatively high	RPA	Cool and humid 2-3 weeks post anthesis
	High	PrMS	Cool and wet before maturity
Kitakei-1354	Constantly low	—	Even in cool and wet environment
Lancer	Often high	PMAA	Even in hot and dry environment

\* RPA : Retention of paricarp amylase with no germination.  
PrMS : Pre-maturity sprouting amylase with germination.  
PMAA : Pre-maturity amylase accumulation with no germination.

いずれにしろ、Lancerのように穂発芽耐性が強く発芽が認められないにもかかわらず、高 $\alpha$ -アミラーゼ活性を示す品種が確認されたことは、小麦の品種開発を進めていく上で重要な意味を持つ。すなわち、従来から実施されていた成熟期以降の穂発芽耐性の検定だけでは、これら成熟期で未発芽のまま高 $\alpha$ -アミラーゼ活性を示す品種を排除できないためである。したがって、成熟期以降の休眠性とともな成熟期における $\alpha$ -アミラーゼ活性も検定し、品種選抜を実施する必要がある。

## 第2項 成熟期以降の降雨処理が穂発芽粒率と $\alpha$ -アミラーゼ活性に及ぼす影響

試験は1991～1995年に中央農試および十勝農試で実施されたが、最初に1991年の中央農試の結果について述べる(図Ⅲ-3)。チホクコムギの成熟期は7月12日であったが、成熟期以前の気象条件は比較的良好で降雨もほとんど認められなかった。その後、7月17、18、21、23、25～27日に降雨が認められた。

自然降雨条件で生育したチホクコムギに対して降雨処理を行った結果(図Ⅲ-4-①)、3回の降雨処理の中で、処理時期が遅いほど $\alpha$ -アミラーゼ活性および穂発芽粒率は高まりやすかった。すなわち、温度15℃で4日間加水処理の $\alpha$ -アミラーゼ活性を比較すると、1回目では処理前の84mU/gが4日処理後には377mU/gに高まった程度であったが、3回目では処理前に既に502mU/gと高く、4日後では5,000mU/g以上に達した。穂発芽粒率も同様で、1回目処理では0%から0.8%とわずかな増加であったが、3回目では処理前に既に3.3%の穂発芽が認められ、4日後では48.8%に達した。このように3回目処理では処理前に既に穂発芽と高 $\alpha$ -アミラーゼ活性が認められたが、これは成熟期から時間が経過し、圃場で数度の降雨に遭ったためである。

降雨時の温度の影響を検討すると、15、20、25℃では、明らかに低温の方が $\alpha$ -アミラーゼ活性も穂発芽粒率も高かった。この理由として、この温度域では低温の方が

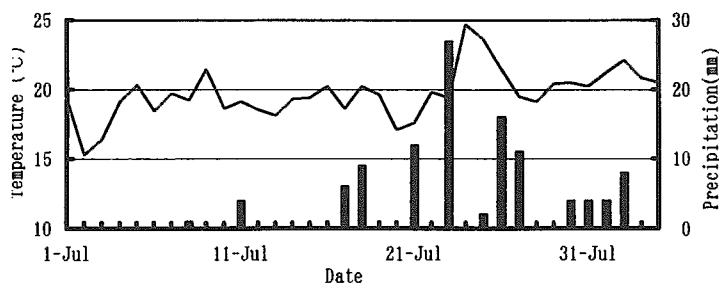
休眠が打破されやすいためと考えられる。

ビニールハウスで覆った無降雨条件で生育したチホクコムギ(図Ⅲ-4-②)と自然降雨条件で生育したチホクコムギ(図Ⅲ-4-①)の比較から、降雨処理前の気象条件の影響について検討すると、成熟期直後の1回目処理では両者間の差は大きくなかったが、2回目、3回目処理では自然条件の方が無降雨条件より明らかに活性が高かった。これは、処理前の降雨の有無が休眠性に影響しているためと考えられた。すなわち、1回目処理では自然条件でも降雨が少なかったため、無降雨条件とほぼ同程度の休眠性を維持していたと思われる。その後、自然条件では降雨の頻度が高かったため休眠が浅くなり、 $\alpha$ -アミラーゼが発現しやすくなったものと考えられる。

しかし、無降雨条件の試料を用いた場合でも、成熟期からの日数が経過するほど降雨処理により穂発芽および $\alpha$ -アミラーゼは発現しやすくなっていることから、降雨がなくても、成熟期からの期間が経過するほど休眠が浅くなるといえる。

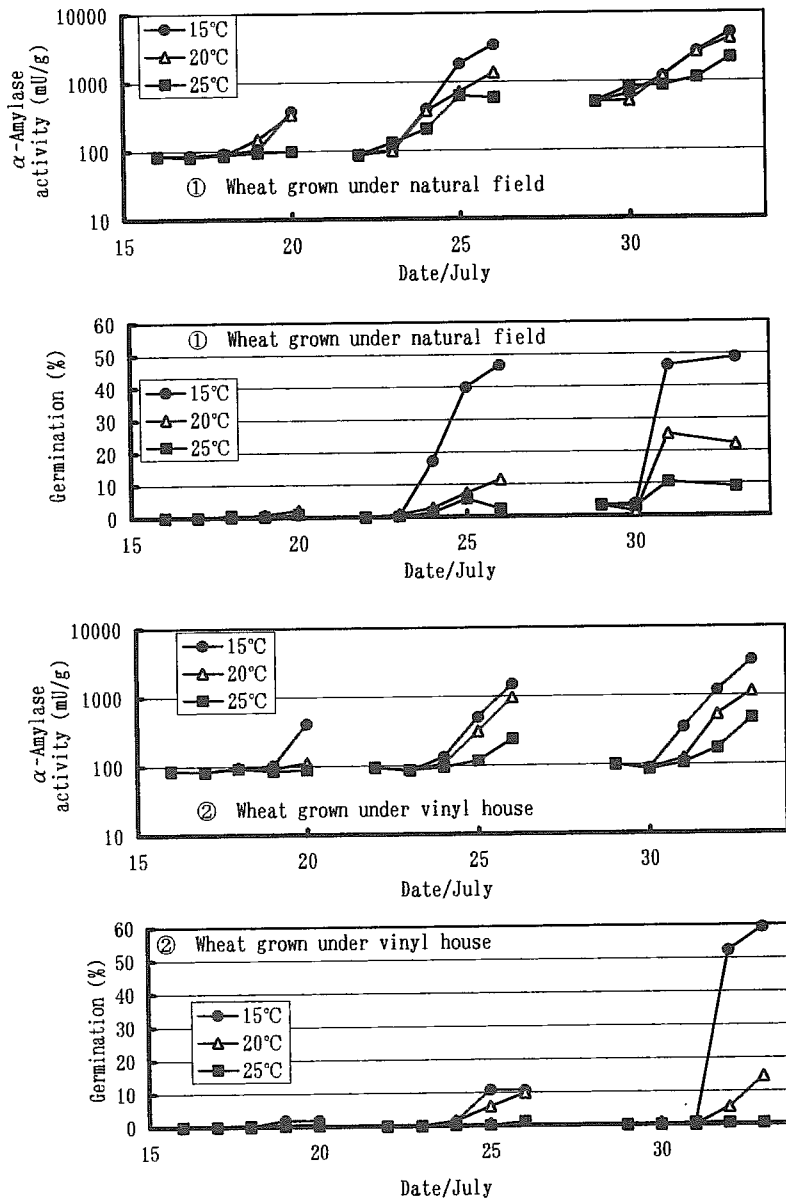
このように低アミロ小麦の発生は成熟期以降の期間と降雨日数に大きく影響されることから、成熟期以降どれくらいの降雨で低アミロ小麦が発生するかを検討した。すなわち、横軸に成熟期以降の日数を取り、縦軸には低アミロ化危険降雨日数( $\alpha$ -アミラーゼ活性が低アミロ小麦の推定値である290mU/g以上に達する降雨期間)を取り、これまでの各試験地のデータをプロットした(図Ⅲ-5)。

その結果、自然降雨条件の試料では成熟期以降の期間と低アミロ小麦誘因降雨日数には $r=0.856^{**}$ ( $n=27$ )の明らかな負の相関が認められた。すなわち、成熟期後の日数が経過するほど少ない降雨日数で低アミロ化することが明らかとなった。そこで、成熟期以降の経過日数と低アミロ化する降雨日数を大まかに設定すると、①成熟期後降雨の認められる自然条件では、成熟期の5日後では3日間の降雨で低アミロ化すると予想された。10日後では2日間の降雨で低アミロ化し、15日後では1日間



図Ⅲ-3 Weather conditions at Central Agricultural Experiment Station in 1991. Bar : precipitation, line : mean temperature.





図Ⅲ-4 Changes of  $\alpha$ -amylase activity and germination percentage by wetting treatment. The wetting treatments were conducted 3 times after maturity on Chihokukomugi ears grown under natural field and grown under vinyl house at Central Agricultural Experiment Station in 1991.

の降雨で低アミロ化する危険性が高い。

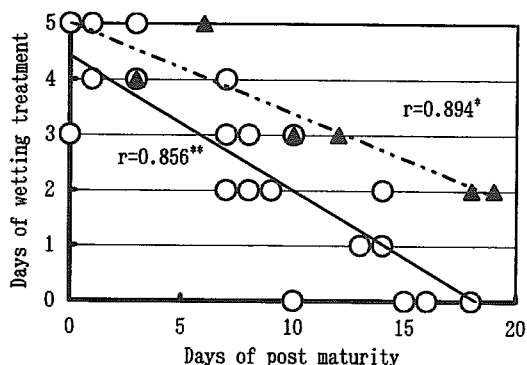
また、無降雨条件の試料でも  $r = 0.894^*$  ( $n = 6$ ) の有意な負の相関が認められたが、傾きは小さかったことから、無降雨条件は自然条件と比較して低アミロ化しにくいことが示されている。低アミロ化危険降雨日数としては成熟期直後では1日程度の差であったが、15日後では2日間程度に差が広がっていた。

しかし、同一経過日数でも低アミロ化危険降雨日数にかなりのバラツキが認められたことから、これらの回帰式からの低アミロ小麦の発生を正確に予測することは困難である。バラツキの原因としては、気温や湿度など降

雨以外の要因や、成熟期前の気象条件による休眠程度の差などが影響していると推測される。したがって、気象条件から低アミロ小麦の発生を正確に予測するためには、これらに関する情報を得ながらさらに検討する必要がある。

### 第3項 子実吸水が発芽と $\alpha$ -アミラーゼ活性に及ぼす影響

吸水処理前の子実水分は各品種とも11~12%程度でバラツキは小さく、 $\alpha$ -アミラーゼ活性はいずれも200mU/g以下と全般に低かった。また、処理前の子実に芽切りや



図Ⅲ-5 Relationships between days of post maturity and days of wetting treatment (inducing high  $\alpha$ -amylase activity over 290 mU/g). Wetting treatments were conducted on Chihokukomugi ears grown under natural field (○) at Central Agricultural Experiment Station and Tokachi Agricultural Experiment Station from 1991 to 1995 and Chihokukomugi ears grown under vinyl house (▲) at Central Agricultural Experiment Station in 1991 and 1992. \*\*\*, \*\*: Significant at 5% and 1% level, respectively.

発根は認められなかった。

24時間吸水後のチホクコムギの子実水分の平均は32.2%で、最低22.2%から最高40.6%まで分布していた(表Ⅲ-6)。ホロシリコムギの平均子実水分は30.1%、北系1354の平均は30.4%であった。吸水後の $\alpha$ -アミラーゼ活性はチホクコムギが平均480mU/g、ホロシリコムギが666mU/gであったのに対して、北系1354は255 mU/gで他の2品種より低かった。

24時間吸水後の子実水分と $\alpha$ -アミラーゼ活性の関係を検討すると(図Ⅲ-6)、吸水後の子実水分が高いほど $\alpha$ -アミラーゼ活性が高まる傾向が認められた。すなわち、チホクコムギでは $r=0.689^{**}$ ( $n=80$ )、ホロシリコムギでは $r=0.678^{**}$ ( $n=80$ )といずれも比較的高い相関関係が認められた。北系1354では活性程度がやや低かったために相関係数が小さく、 $r=0.480^{**}$ ( $n=80$ )であった。また、いずれの品種においても、吸水後水分がおよそ25%以下の範囲では高活性の子実はほとん

ど認められず、高活性の子実が認められたのは25%以上であった。

吸水後水分と発芽程度の関係を検討すると、3品種ともに30%以下では芽切りおよび発根などの外見的变化は認められなかった。水分30%以上では多くの子実に芽切り現象が認められ、発根した子実も認められた。これら発根が認められた子実においても、 $\alpha$ -アミラーゼ活性の変異は大きく、300mU/g以下の比較的低活性の子実も認められた。

72時間吸水後のチホクコムギの子実水分の平均は31.8%、最低は19.4%、最高は45.7%であった(表Ⅲ-6)。ホロシリコムギ、北系1354の平均水分はそれぞれ31.2%、30.8%であった。チホクコムギの吸水後の $\alpha$ -アミラーゼ活性は平均が10,600mU/gで、24時間吸水と比較して高かった。ホロシリコムギの吸水後の平均活性は9,410 mU/g、北系1354の平均活性は4,240mU/gであり他の2品種より低かった。

次に、72時間吸水後の子実水分と $\alpha$ -アミラーゼ活性の相関を検討すると(図Ⅲ-7)、チホクコムギにおける相関係数は $r=0.917^{**}$ ( $n=80$ )で、24時間吸水の場合よりも高かった。ホロシリコムギ、北系1354も相関係数は0.9以上でチホクコムギと同様に高かった。

また、チホクコムギについて子実水分別に $\alpha$ -アミラーゼ活性を検討すると、水分がおよそ25%以下の範囲では $\alpha$ -アミラーゼ活性は200mU/g程度で処理前と同等であった。しかし、25~30%の子実では活性が高まり200~3,000mU/gに分布した。30%以上ではほとんどの子実が高活性を示し、平均は19,000mU/gに達した。

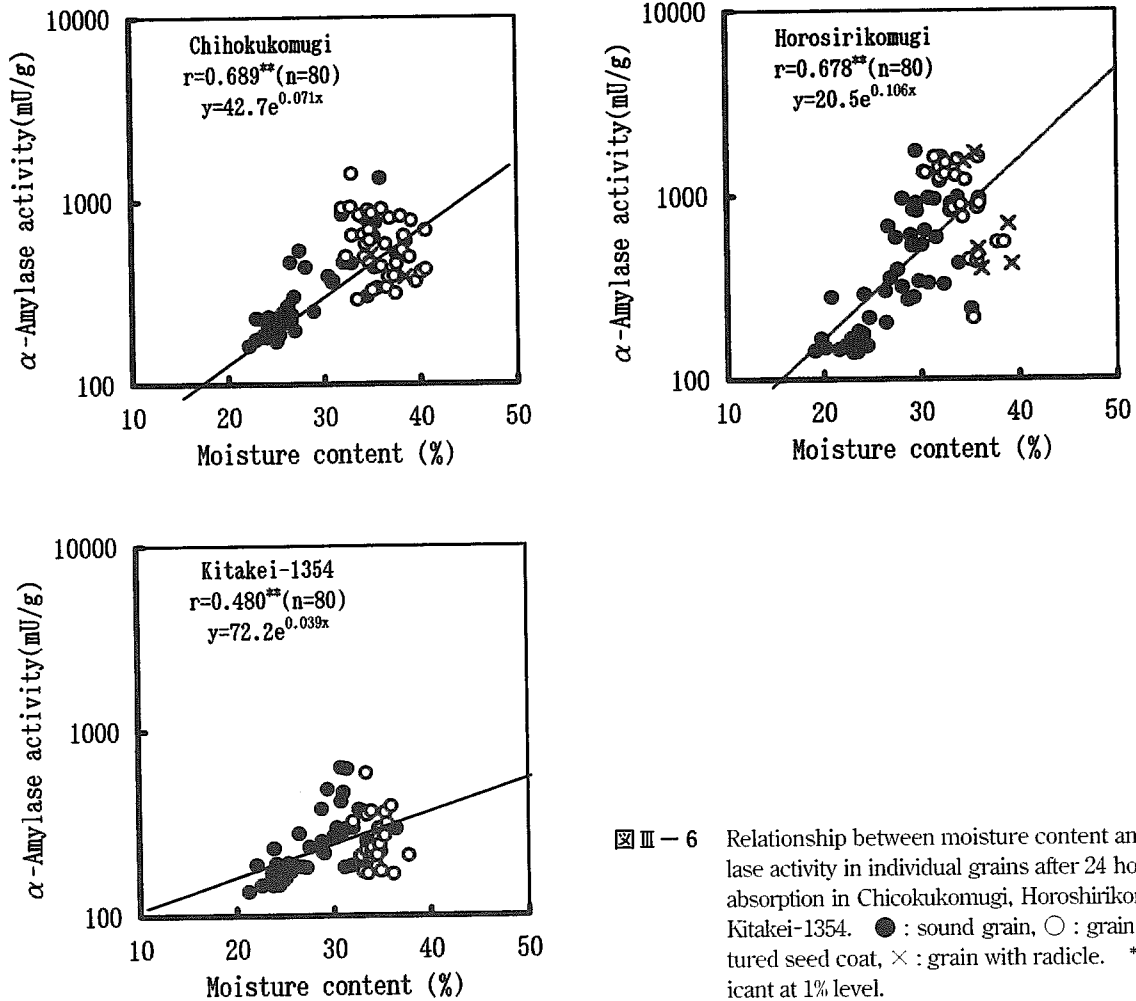
発芽程度についてみると、24時間処理の場合と同様に、吸水後水分30%以下では外見的变化の兆候はほとんど認められなかった。30%以上では24時間の場合より発芽が進行し、水分30~40%ではほとんどの子実で芽切りおよび発根が認められ、40%以上ではすべての子実が発根していた。

以上のように、休眠の消失した子実に加水量を変えて、

表Ⅲ-6 Variation of moisture content and  $\alpha$ -amylase activity in grain after 24 and 72 hours of wetting treatment\* in three varieties.

Wetting hours	Variety	Moisture content (%)				$\alpha$ -Amylase activity (mU/g)			
		Mean	Minimum	Maximum	SE	Mean	Minimum	Maximum	SE
24	Chihokukomugi	32.2	22.2	40.6	5.3	480	161	1,400	76
	Horoshirikomugi	30.1	19.1	39.3	5.1	666	139	1,730	470
	Kitakei-1354	30.4	21.3	37.8	4.4	255	135	629	107
72	Chihokukomugi	31.8	19.4	45.7	7.2	10,600	155	47,100	12,200
	Horoshirikomugi	31.2	20.7	44.2	6.5	9,410	158	30,800	9,770
	Kitakei-1354	30.8	19.1	42.1	6.2	4,240	171	18,100	48,340

\* For each wetting treatment, 80 grains were divided to 80 test tubes and were individually attached by various amount of water (5-30 $\mu$ l). Then test tubes were sealed by gum cup and incubated at 17°C.

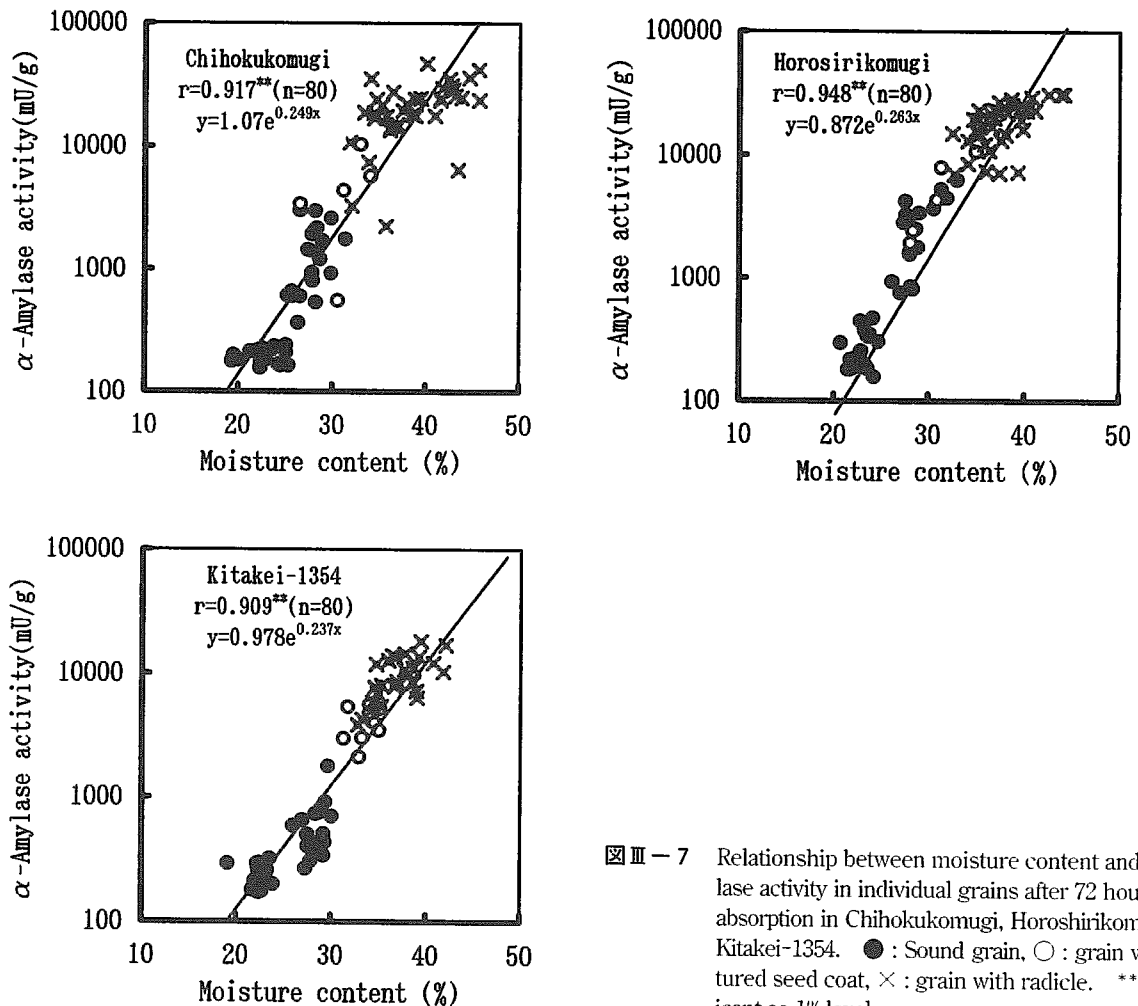


図Ⅲ-6 Relationship between moisture content and  $\alpha$ -amylase activity in individual grains after 24 hours water absorption in Chihokukomugi, Horosirikomugi, and Kitakei-1354. ● : sound grain, ○ : grain with ruptured seed coat, × : grain with radicle. \*\*: Significant at 1% level.

24時間および72時間吸水させた結果、吸水後の子実水分が高いほど $\alpha$ -アミラーゼ活性と発芽粒率は高まった。そこで、子実水分が $\alpha$ -アミラーゼ活性と発芽に及ぼす影響を整理すると、3品種に共通して、以下の4つのパターンに大きく分類された。すなわち、1) 水分がおよそ25%以下では吸水時間に関わらず発芽は認められず、 $\alpha$ -アミラーゼ活性も吸水前と同等であった。2) 水分が25~30%では、いずれの吸水時間でも発芽は認められなかった。しかし、 $\alpha$ -アミラーゼ活性が比較的高い子実が多数認められた。3) 子実水分30%以上においては、吸水時間により反応は異なっており、72時間吸水ではほとんどの子実が発根し、 $\alpha$ -アミラーゼも高い活性を示した。4) しかし、24時間吸水では、子実水分が高まっても $\alpha$ -アミラーゼ活性の変異が大きく、外見上の発芽が認められても、 $\alpha$ -アミラーゼ活性が比較的低い子実が認められた。このように、パターン1)、3)においては発芽の有無は $\alpha$ -アミラーゼの活性化と一致していたが、パターン2)、4)においては両者は必ずしも一致していなかった。

従来から、発芽粒率と $\alpha$ -アミラーゼ活性あるいはアミロ値との相関は必ずしも高くはなく<sup>59, 65)</sup>、外見的に発芽が認められないのに低アミロ小麦となる例や、逆に発芽の兆候が認められるのにアミロ値が比較的高い例が指摘されている<sup>51, 54)</sup>。この理由として、Lancerなどの一部の品種ではPMAA現象が影響していると推測される。しかし、他の多くの品種については発芽過程における吸水時間と子実水分の影響が示唆される。

最初に、吸水時間の影響を検討するために、加水後の発芽と $\alpha$ -アミラーゼ活性の推移について考察すると、十分量の水分条件下では子実は加水直後から急激に吸水するため<sup>20)</sup>、胚部の膨張およびその後の種皮の開裂(芽切り)は比較的短時間に起こる。一方、 $\alpha$ -アミラーゼの発現には①ジベレリンによる刺激、②mRNAの生成、③アミノ酸からのde novo合成、などいくつかのステップを経るとされており<sup>56)</sup>、ある程度の時間が必要になる。すなわち、吸水とそれに伴う種皮の開裂はかなり物理的な反応といえるのに対して、 $\alpha$ -アミラーゼ活性の合成は生化学的な反応と考えられる<sup>44)</sup>。この両者のタイムラ



図Ⅲ-7 Relationship between moisture content and  $\alpha$ -amylase activity in individual grains after 72 hours water absorption in Chihokukomugi, Horosirikomugi, and Kitakei-1354. ● : Sound grain, ○ : grain with ruptured seed coat, × : grain with radicle. \*\* : Significant at 1% level.

グにより、パターン4)のような芽切りしているのに比較的低活性の子実が発生すると推測される。しかし、処理期間が長くなると $\alpha$ -アミラーゼも急激に生合成されるため、発芽の有無と $\alpha$ -アミラーゼ活性とはほぼ一致し、72時間吸水では発芽の認められる子実ではいずれも高い $\alpha$ -アミラーゼ活性を示す。

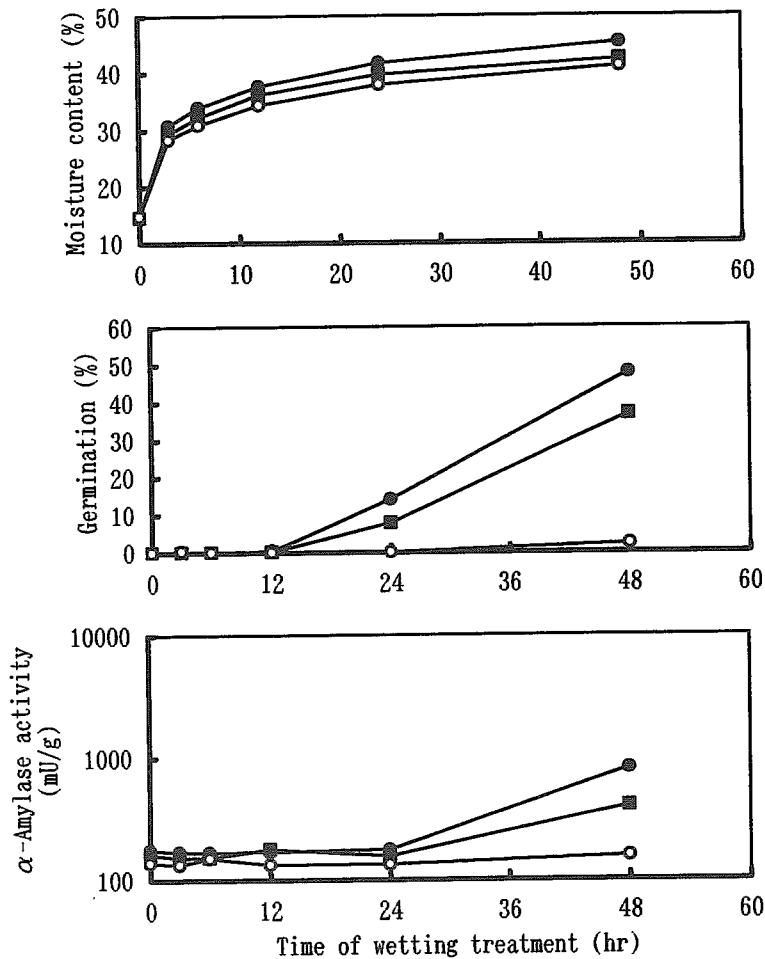
次に子実水分の影響を考察すると、吸水時間の長短に関わらず、 $\alpha$ -アミラーゼを生合成させる子実水分と発芽を誘導する子実水分に差があることが示唆された。すなわち、水分25%以下では $\alpha$ -アミラーゼの発現も発芽の兆候もほとんど認められなかったが、水分25~30%では芽切りが認められないのに $\alpha$ -アミラーゼの生合成だけが起り、30%以上では両者とも認められた。したがって、 $\alpha$ -アミラーゼの生合成は子実水分25%以上で開始されるのに対して、種皮の開裂やその後の発根には30%以上の子実水分が必要と考えられる。この子実水分25~30%における発芽と $\alpha$ -アミラーゼ活性発現の差異がパターン2)の現象を発生させたと推測される。

このように $\alpha$ -アミラーゼの生合成がより低い子実水

分で開始されるのは、前述したように $\alpha$ -アミラーゼの生合成にはある程度の時間が必要となるためと考えられる。すなわち、発芽より低水分で生合成を開始し、発芽に必要なとされるエネルギーの供給に備えるものと推測される。一方、子実水分30%以下で発芽現象が起こらない原因として、十分量の水分が確保されない状況では発芽しても、その後の成長は困難なことから、 $\alpha$ -アミラーゼを発現させながらもより良好な水分条件まで発芽を停止させていると思われる。

たとえば、十勝地方のように朝晩降霜しほとんど日照がないような高湿条件が続いた場合、子実水分は25~30%を推移し、発芽には至らないが $\alpha$ -アミラーゼは高い活性を示すと予想される。

以上のように、小麦子実の吸水過程で、発芽と $\alpha$ -アミラーゼ活性を誘引する子実水分が異なること、また両者の発現にタイムラグがあることが明らかとなった。これらのことが、発芽と $\alpha$ -アミラーゼ活性とが必ずしも一致しない現象の一部を説明していると推測される。



図Ⅲ-8 Changes of moisture content, percentage of germinated grain, and  $\alpha$ -amylase activity in grain by wetting treatment on isolated grains of Chihokukomugi (●), Hortshirikomugi (■) and Kitakei-1354 (○).

#### 第4項 吸水速度の品種間差

吸水処理前の子実水分はチホクコムギが14.7%，ホロシリコムギが14.5%，北系1354が14.8%と全般に低く，品種間差は認められなかった。また，発芽はいずれの品種も認められず， $\alpha$ -アミラーゼ活性も200mU/g以下と低かった。

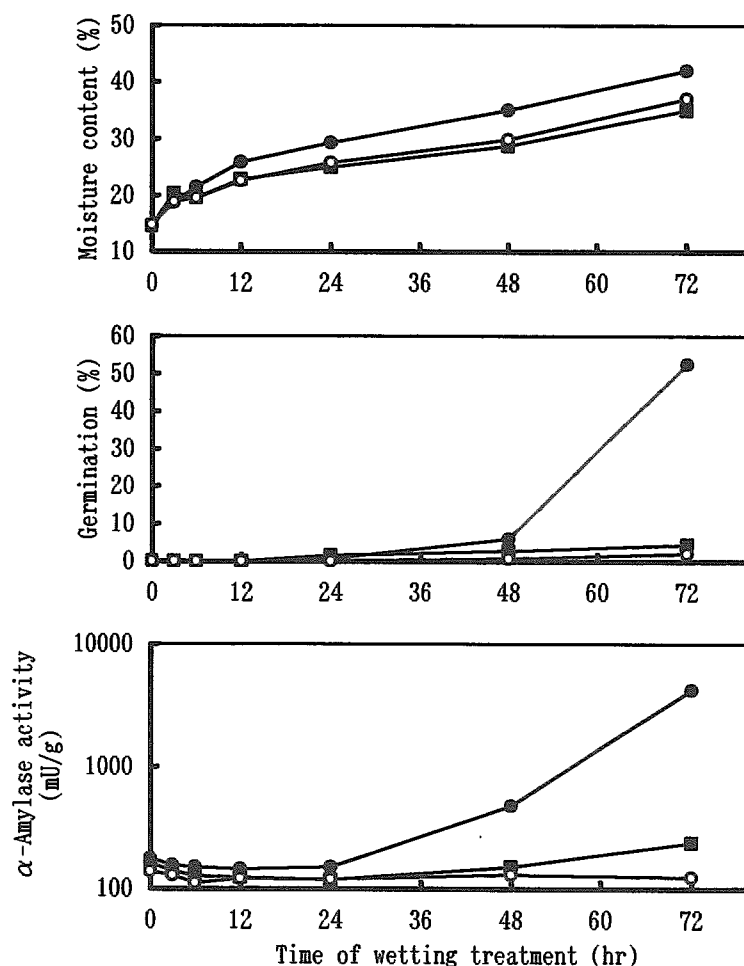
脱穀子実に加水分した結果，処理開始直後から急激に吸水し，3時間後の子実水分はおよそ30%に達し，以降も漸増し24時間後には38～42%に，48時間後には41～45%に達した（図Ⅲ-8）。また，処理直後から品種間差が認められ，チホクコムギの吸水が最も速く，ホロシリコムギがそれに続き，北系1354が最も遅かった。

発芽粒は処理開始12時間まで3品種ともほとんど認められなかったが，その後品種間差が明らかとなった。すなわち，チホクコムギの発芽粒率は24時間後で14.1%，48時間後で47.7%と最も高く，ホロシリコムギも24時間後で7.9%，48時間後で36.7%と高い傾向を示した。一方，北系1354については24時間後では認められず，48時間後

も2.2%とわずかであった。したがって，子実の休眠性は北系1354が最も高く，これと比較してチホクコムギとホロシリコムギはともに休眠性が劣ると推測される。また， $\alpha$ -アミラーゼ活性も穂発芽粒率と同じ品種間の順位を示した。

一方，穂加水処理では子実を穎を通して吸水するため，子実が直接吸水する場合よりも水分の増加速度は緩やかであった。すなわち，3時間後の子実水分はおよそ20%で，24時間後で25～30%に，48時間後には29～35%に，72時間後で35～42%に達した（図Ⅲ-9）。穂中子実の吸水速度の品種間差は時間の経過とともに大きくなり，しかも変異幅は脱穀子実の場合よりも大きかった。また，脱穀子実の場合と品種間の順位に相違が認められ，チホクコムギの吸水が最も早いのは同様であったが，ホロシリコムギの吸水は北系1354よりも遅く，脱穀子実と穂中子実で順位が入れ替わっていた。

発芽の開始は脱穀子実の場合よりも遅く，各品種とも24時間ではほとんど認められなかったが，チホクコムギ



図Ⅲ-9 Changes of moisture content, percentage of germinated grain, and  $\alpha$ -amylase activity in grain by wetting treatment on ears of Chihokukomugi (●), Horoshirikomugi (■) and Kitakei-1354 (○).

では48時間後に6.0%, 72時間後に52.5%の高い穂発芽粒率を示した。これに対して、ホロシリコムギ、北系1354の発生率は低く、24時間後の穂発芽粒率はそれぞれ、2.7%と0.7%で、72時間後においても4.5%と2.0%と低かった。このように、ホロシリコムギの発芽粒率はチホクコムギより明らかに低く、北系1354と同等であった。したがって、穂発芽耐性はチホクコムギが劣り、ホロシリコムギと北系1354は同程度の耐性と評価される。

$\alpha$ -アミラーゼ活性は発芽粒率の推移とほぼ対応しており、チホクコムギでは48時間後に477mU/g、72時間後に4,200mU/gと大きく高まっていたのに対して、ホロシリコムギの活性程度はやや小さく、北系1354においては明瞭な活性の発現は認められなかった。

このように、ホロシリコムギにおいて穂発芽耐性の評価と子実の休眠性の評価に若干のずれが生じた原因として、ホロシリコムギの穂中子実の吸水速度が遅いことが大きく寄与していると推測される。すなわち、穂中の子実が水分30%に達するまでの時間を比較すると、1994年

のチホクコムギでは27時間、ホロシリコムギでは53時間、北系1354では49時間であった。このように、ホロシリコムギはチホクコムギより発芽を引き起こすと考えられる水分30%に達するまでの時間が、1日程度遅かった。このことは、休眠性とは別に吸水速度だけで、発芽の発生に1日程度の差があることを示しており、穂発芽の発生を軽減するために有効と言える。このことから、穂中子実の吸水速度は子実の休眠性とともに関与していることが確かめられた。この穂中子実の吸水速度における品種間差には、穎の透水性や穂の構造等が影響していると推測される。

従来から行われてきた穂発芽耐性の検定では、成熟期から一定期間後に採取された穂試料について加水処理を実施し、発芽の有無を調査することが多かった。この場合、子実の休眠性と穂中子実の吸水速度の2つの要因が総合的に影響しており、個々の要因を区別して評価することは不可能である。しかし、品種の穂発芽耐性を正確に評価し、品種の特徴を把握するためには、休眠性と吸

水速度を別の指標にとらえ、それぞれの面から評価する事も必要と思われる。

#### 第4節 要約

人工気象室を用いて、秋播小麦3品種(チホクコムギ, 北系1354, Lancer)について、登熟期の気象条件が成熟期の $\alpha$ -アミラーゼ活性およびそのアイソザイムに及ぼす影響を解析した。その結果、①チホクコムギにおいては登熟期の早期~中期の低温高湿処理により、発芽は認められなかったが、登熟期に発現している低pIの $\alpha$ -アミラーゼアイソザイム(Amy-2)が成熟期まで残存し、比較的高活性を示した(Retention of pericarp  $\alpha$ -amylase: RPA)。登熟の晩期に低温条件でしかも穂が濡れる程度まで加湿されると、穂発芽耐性の弱いチホクコムギでは成熟期前で穂発芽が発生し、高pIの $\alpha$ -アミラーゼアイソザイム(Amy-1)が大きく活性化した(Pre-maturity sprouting  $\alpha$ -amylase: PrMS)。②北系1354はチホクコムギやLancerと比較して登熟期の気象条件の影響を受けにくく、低温高湿下においても発芽せず、成熟期の $\alpha$ -アミラーゼ活性も全般に低かった。③Lancerは低温高湿および高温低湿の両気象条件において、発芽が認められなかったが高いAmy-1の活性が認められた(Pre-maturity  $\alpha$ -amylase: PMAA)。このように、北海道における成熟期の高 $\alpha$ -アミラーゼ活性現象では、3つの要因(RPA, PrMS, PMAA)が観察された。

成熟期以降の気象条件と $\alpha$ -アミラーゼ活性との関係を解析した結果、成熟期以降の期間が長いほど、 $\alpha$ -ア

ミラーゼ活性は高まりやすかった。また、成熟期以降に降雨が多いほど休眠が浅くなり、 $\alpha$ -アミラーゼが活性化しやすくなっていた。降雨処理時の温度の影響として、15, 20, 25℃の温度間では、低温の方が明らかに活性化しやすかった。

休眠の消失した子実に対して、吸水試験を実施した結果、1)水分がおよそ25%以下では、発芽および $\alpha$ -アミラーゼの発現はほとんど認められず、2)水分が25~30%でも発芽は認められなかったが、 $\alpha$ -アミラーゼの発現が認められ、3)子実水分30%以上においては、吸水時間により反応は異なっていたが、72時間吸水ではほとんどの子実が発芽し、活性も高く、4)一方、24時間吸水では外見的な発芽が認められても、 $\alpha$ -アミラーゼ活性が比較的低い子実が認められた。4)の原因として、子実は加水後急激に吸水するため、発芽の兆候は早期から認められるのに対して、 $\alpha$ -アミラーゼの生合成には時間を要するためと推測される。2)については、 $\alpha$ -アミラーゼを誘導させる水分と発芽を誘導する水分に差があることが原因と推測される。

チホクコムギ, ホロシリコムギ, 北系1354について吸水速度を比較した結果、チホクコムギの穂中子実の吸水速度は北系1354より早く、ホロシリコムギが最も遅かった。ホロシリコムギはチホクコムギよりも穂発芽耐性が高いとされているが、これには穂中子実の吸水速度が遅いことが大きく寄与していると推測される。したがって、同程度の休眠性を持つ品種間においては、穂中子実の吸水速度は穂発芽耐性に大きく影響すると言える。