

論文目録

氏名 北林 広巳



学位論文

題目 ソバ属栽培種のルチン含量に関する育種学的研究

学位論文の基礎となる学術論文

題目 Varietal differences and heritability for rutin content in common buckwheat, *Fagopyrum esculentum* Moench.

著者名 Kitabayashi, H., Ujihara, A., Hirose, T. and Minami, M.

学術雑誌名 Breeding Science に発表・~~発表予定~~

(巻・号・頁) (45 . 1 . ~)

発行年月 平成 7 年 3 月

題目 On the genotypic differences for rutin content in Tartary buckwheat, *Fagopyrum tataricum* Gaertn.

著者名 Kitabayashi, H., Ujihara, A., Hirose, T. and Minami, M.

学術雑誌名 Breeding Science に発表・~~発表予定~~

(巻・号・頁) (45 . 2 . ~)

発行年月 平成 7 年 6 月

題目

著者名

学術雑誌名

(巻・号・頁) (. . ~)

発行年月

既発表学術論文

題 目 ネパール産普通ソバの植物体からのカルス形成及び
色素発現について

著 者 名 氏原暉男・北林広巳

学術雑誌名 信州大学農学部紀要 に(発表)・発表予定

(巻・号・頁) (28・1・45～52)

発行年月 平成3年7月

題 目 画像処理装置によるニンジンカルスの生育の解析
南 峰夫・山崎隆生・北林広巳・氏原暉男

著 者 名 信州大学農学部紀要

学術雑誌名 に(発表)・発表予定

(巻・号・頁) (29・2・～)

発行年月 平成4年12月

題 目 ネパールに分布するダツタンソバ (*Fagopyrum tataricum*)
の粒形の地理的変異

著 者 名 廣瀬玉紀・氏原暉男・北林広巳・南 峰夫

学術雑誌名 北陸作物学会報 に(発表)・発表予定

(巻・号・頁) (28・・72～73)

発行年月 平成5年3月

題 目 ネパール産普通ソバにおける赤色花系統の選抜について

著 者 名 北林広巳・氏原暉男・廣瀬玉紀・南 峰夫

学術雑誌名 北陸作物学会報 に(発表)・発表予定

(巻・号・頁) (28・・74～76)

発行年月 平成5年3月

既発表学術論文

題目 Morphology and identification by isozyme analysis of interspecific hybrids in buckwheats.

著者名 Hirose, T., Ujihara, A., Kitabayashi, H. and Minami, M.

学術雑誌名 Fagopyrum に~~発表~~・発表予定

(巻・号・頁) (13 . . 25 ~ 30)

発行年月 平成 5 年 12 月

題目 Interspecific cross-compatibility in *Fagopyrum* according to pollen tube growth.

著者名 Hirose, T., Ujihara, A., Kitabayashi, H. and Minami, M.

学術雑誌名 Breeding Science に~~発表~~・発表予定

(巻・号・頁) (44 . 3 . 307 ~ 314)

発行年月 平成 6 年 9 月

題目 Pollen tube behavior related to self-incompatibility in interspecific crosses of *Fagopyrum*.

著者名 Hirose, T., Ujihara, A., Kitabayashi, H. and Minami, M.

学術雑誌名 Breeding Science に発表・~~発表予定~~

(巻・号・頁) (45 . 1 . ~)

発行年月 平成 7 年 3 月

題目

著者名

学術雑誌名 に発表・発表予定

(巻・号・頁) (. . ~)

発行年月 年 月

ツバ属栽培種のポリチン含量に
関する育種学的研究

1994年

岐阜大学大学院農学研究科
農学専攻園芸学
三宅 三彦
(岐阜大学)

三宅 三彦

②

ソバ属栽培種のルチン含量に
関する育種学的研究

北 林 広 巳

目 次

第1章 緒 論	1
第2章 ルチン定量法の検討	5
第1節 緒 言	5
第2節 ルチンの測定法	5
第3節 試料調製法の検討	7
第4節 試料調製法の決定および定量誤差	15
第5節 摘 要	18
第3章 普通ソバにおけるルチン含量の品種・系統間 ならびに個体間変異	19
第1節 緒 言	19
第2節 普通ソバのルチン含量に関する品種・系統間変異について	19
第3節 普通ソバの種子ルチン含量に関する個体間変異について	33
第4節 普通ソバの種子ルチン含量に関する選抜効果について	36
第5節 摘 要	39
第4章 ダツタンソバにおけるルチン含量の品種・系統間 ならびに個体間変異	41
第1節 緒 言	41
第2節 ダツタンソバのルチン含量に関する品種・系統間変異	42
第3節 ダツタンソバの種子ルチン含量に関する個体間変異	52
第4節 摘 要	54

第5章 普通ソバとダツタンソバのルチン含量に関する 種間差	55
第1節 緒言	55
第2節 普通ソバとダツタンソバのルチン含量に関する種間差 ...	56
第3節 普通ソバとダツタンソバの葉ルチン含量の経時的変化 ...	62
第4節 摘要	68
第6章 総合考察	70
第7章 総括	75
謝辞	81
引用文献	82
Summary	90

第1章 緒論

近年、農作物の高付加価値化の観点から生産物の品質向上が強く求められ、品質・成分の改良は多収性、ストレス耐性、耐病虫性などとならんで、重要な育種目標のひとつとなっている。

成分含量に関する育種の典型的な事例の一つは、テンサイ (*Beta vulgaris*) の根中の糖分含量に関するものであろう。最初に家畜ビートからショ糖が発見されたのは約 220 年前の 1774 年で、その時の糖含有率はわずか 2% 弱で、砂糖の原料としては利用されなかった。その後、糖含有率を高める方向で選抜等の育種が行われた結果、最近では糖含有率が 20% 近くにまで達する品種が開発され、テンサイは世界の砂糖生産の約半分を供給する主要な製糖原材料となっている^(8, 23)。また、成分育種で特に関心を集めたのはトウモロコシのリジン含量に関する Mertz らの研究⁽⁵⁰⁾で、突然変異系統の opaque-2 が高いリジン含量を示し、その利用がトウモロコシの飼料価値を高めるに至った。

最近では、分析機器や測定法の発達により、成分含量を対象とした育種がさかんに行われるようになった。ダイズ (*Glycine max*) では、タンパク質含量、含硫アミノ酸含量^(31, 37)やリノレン酸含量^(62, 75)に関する育種が行われ、また、ナタネ (*Brassica napus*, *B. campestris*) では食用に不都合な成分であるエルシン酸を含まない系統を育成し、脂肪酸組成の改良に成功した⁽⁶⁵⁾。また、イネ (*Oryza sativa*) のタンパク質含量^(19, 81)、カンショ塊根中の遊離糖組成⁽⁷⁷⁾やβ-カロチン含量⁽⁷⁸⁾などに関する育種学的な研究も行われている^(4, 6, 72, 85)。

その他にも多くの作物で成分に関する研究が行われているが、ソバ (*Fagopyrum spp.*) についても同様に、品質の向上が要求されるに従いソバの成分に関する研究例が数多くみられるようになってきた。研究の進展につれて、ソバは

単なる嗜好品であるとする位置付けから、栄養学的にも生理学的にも非常に優れた食品素材であるとする評価が数多く報告されるようになった。他の主要な穀類と比較してもソバ子実はタンパク質を多く含み⁽¹¹⁾、また質的にも精白米や小麦粉で不足している必須アミノ酸のリジンをソバは多く含んでいるなどソバのタンパク質は良質であることが報告されている^(28, 29, 30, 58, 59, 60, 64, 71)。その他のソバの成分に関する研究は、糖質⁽⁷⁰⁾、脂質^(48, 69)、脂肪酸組成⁽²²⁾、フラボノイド⁽⁶³⁾および高血圧を抑制するアンジオテンシンI変換酵素(ACE)阻害能⁽⁷³⁾などについて行われ、さらに最近ではソバに含まれる微量元素⁽²⁾、亜鉛⁽²⁴⁾や芳香族化合物の一種のタンニンについても品種間差があることが報告される^(42, 43)など、研究対象となる成分は多岐にわたっている。

その中でもソバの全草中に含まれるルチン(rutin)は、研究者の関心を最も集め、今までに数多くの研究がなされてきた成分のひとつである。ルチンはフラボノイドの一種で1841年に *Ruta graveolens* から初めて単離され⁽⁸⁶⁾、構造的には、グルコース、ラムノース各1分子とアグリコンであるケルセチンよりなる配糖体である(Fig. 1-1)。ルチンは、毛細血管の脆弱性を矯正し脳溢血を予防する薬理作用を有する^(18, 27, 46, 88)ことで知られ、血管強化薬としても市

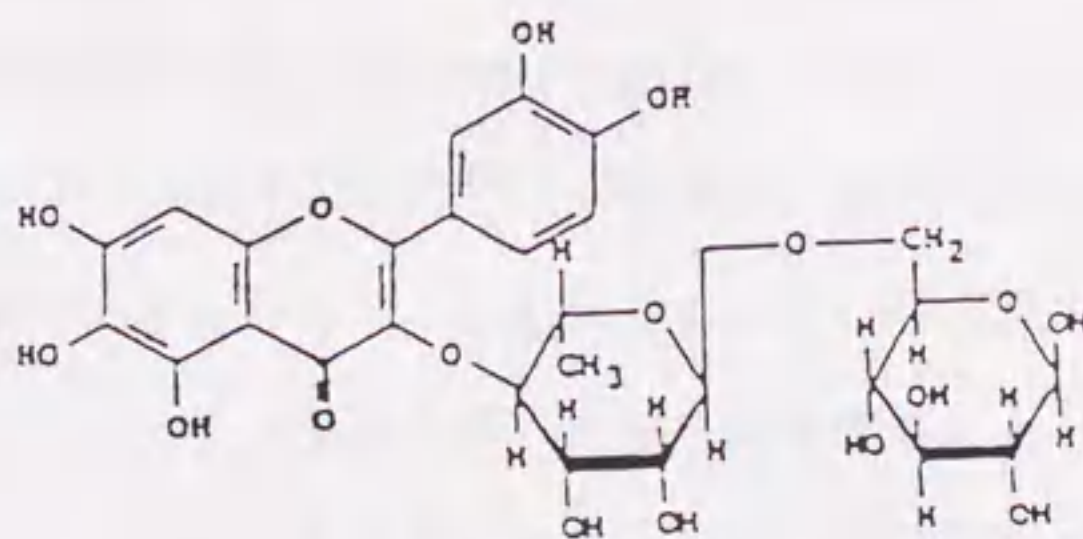


Fig. 1-1. Structure of rutin.

販されている⁽⁴⁴⁾。また、ビタミンC、チロシン、アドレナリンの酸化を防止する⁽¹⁸⁾ため、最近では酸化防止剤としての利用も検討されている⁽³⁾。そのルチンがソバの葉に高濃度で含まれていることが報告されてから⁽⁹⁾、ソバ属(*Fagopyrum*)のルチン含量に関する研究が数多く行われるようになった。

当初の研究課題は、ルチンの医薬品としての工業的な生産を目的としていたため、普通ソバの葉からより多くのルチンを得るための栽培方法や乾燥方法などが中心的課題であった^(26, 36, 52)。ダツタンソバについても普通ソバとの比較を中心に、栽培方法や乾燥方法などに関する研究が進められた^(5, 7, 10, 32, 36, 49, 64, 66, 67)。種子のルチン含量に関しては、1957年に普通ソバでペーパークロマトグラフィによるルチンの定量が行われた⁽¹³⁾が、定量の操作が複雑なうえに大量の試料が必要であったために、その後の研究はあまり進展しなかった。しかしながら、1980年代に高性能液体クロマトグラフィによる定量法が開発されて^(53, 54, 74)から、ごく少量のルチンでも簡便で正確な定量が可能となり、ソバのルチンに関する研究が食品工業的な面^(55, 87)あるいは生理学的な面⁽⁴⁵⁾からも行われるようになった。

ルチンは植物の200種以上にその存在が報告されているが、1%以上のルチンを含むのは30種程度であり、よく知られた植物としてはエンジュ(*Sophora* spp.)、ユーカリ(*Eucalyptus* spp.)、タバコ(*Nicotiana* spp.)などがある^(3, 39)。ソバ属の普通ソバ(*Fagopyrum esculentum* Moench)とダツタンソバ(*F. tataricum* Gaertn.)は子実にルチンを含んでいる唯一の穀類で、日常の食事からルチンを摂取することが可能であることから、特に有用なルチンの資源であると認識されている。したがって、ルチン含量の高い品種を開発することはソバにおける重要な育種目標のひとつであると考えられる。しかしながら、ルチンに関するいままでの研究は栽培方法などに関心が集まり、品種・系統間差などに焦点をあ

てた遺伝・育種学的な研究は皆無に等しく不十分であった。そこで本研究では1992年から1994年の3か年にわたり、普通ソバとダツタンソバのルチン含量に関する育種のための基礎的な資料、知見を得るために、品種・系統間さらには個体間のルチン含量の変異について把握することを目的として実施したものである。

本論文は、第2章で正確なルチン定量法を確立し、第3章では普通ソバのルチン含量に関する品種・系統間変異、個体間変異および遺伝率について明らかにし、第4章ではダツタンソバを対象にして同様な項目について解明しようとしたものである。さらに、開花まで日数、1,000粒重および収量などの形質についても品種・系統間変異を明らかにし、遺伝率の推定やルチン含量との相関についても解析を行った。第5章では両種のルチン含量に関する比較を行いそれぞれの種の特性を明らかにした。最後に、第6章では結果を総合して、ソバ属のルチン含量に関する効果的な育種法について考察を試みた。

第2章 ルチン定量法の検討

第1節 緒言

ルチンの定量法については幾つかの報告がある^(5, 51, 61, 82)。今井らは、ソバの植物体 300 g 前後の試料をメタノールなどの溶媒で抽出し、濃縮を繰り返しルチンの結晶を析出させる重量法により定量を行った⁽²⁵⁾。古沢らは普通ソバの種子 50 g をアルコールで抽出しペーパークロマトグラフ法および比色法により定量を行った⁽¹³⁻¹⁶⁾。その後、1980年代に入り、前述のように高性能液体クロマトグラフィ(HPLC)による定量が可能となった^(53, 54, 74)。

本研究では、少量のルチンでも簡便かつ正確に定量可能な HPLC 法を用いることとした。最初に HPLC 装置の測定条件を設定し、検量線により装置の信頼性について検討した。次に、試料の調製条件すなわち試料の乾燥、粉碎、抽出の各条件について検討し、最適な定量法を決定し、その定量誤差についても明らかにした。

第2節 ルチンの測定法

HPLC によるルチンの測定法を決定し、検量線を求めるとともに、ルチンの標準品を反復測定し装置の精度を検討した。

1. 材料および方法

HPLC 装置は、ポンプ（装置名：CCPM）、カラムオーブン（CO-8010）、オンラインデガッサ（SD-8012）、紫外可視検出器（UV-8010）およびデータ処理を行うシステムコントローラ（SC-8010）より構成される東ソー社製全自動高圧グラジエントシステムを使用した。

HPLC の設定条件は、小原らの方法⁽⁵⁴⁾を参考に、NAGEL 社製カラム Nucleosil 7C₁₈, 6 × 250 mm を使用し、移動相溶液として 2.5% 酢酸、メタノール、アセトニトリル(35:5:10)の混合液を用いた。カラム温度は 30℃ とし、流量は 1.0 ml/min に設定し、測定波長は 350 nm とした。試薬は、酢酸、メタノール、アセトニトリル共に和光純薬社製の特級あるいは HPLC 用を使用した。標準に用いたルチンは、フナコシ社製（HPLC 用）を使用し、メタノールに溶解し標品とした。

以上の条件により、0.016 mg/ml から 1.0 mg/ml までの 7 段階に標準ルチンを調製して測定を行い、検量線を作成した。

また、0.5 mg/ml の標品を 10 回反復測定し、ピーク面積の変動係数をもとめ、HPLC 装置の精度を検討した。

2. 結果および考察

ルチンの Retention 時間は 12 分前後であった。得られた検量線を Fig. 2-1 に示したが、ルチン濃度とピーク面積との相関係数は 0.998 となり検出器の応答は十分に直線的であった。本論文では、種子、葉などの植物体部位から抽出したルチンの試料溶液は、全てこの検量線の範囲内であったことから、測定は適正に行われた。

また、標品を反復測定して得られた変動係数は、0.97% ときわめて変動が少

なく、HPLC 装置の測定精度はかなり高いと判断され、測定結果は信頼できるものと結論した。

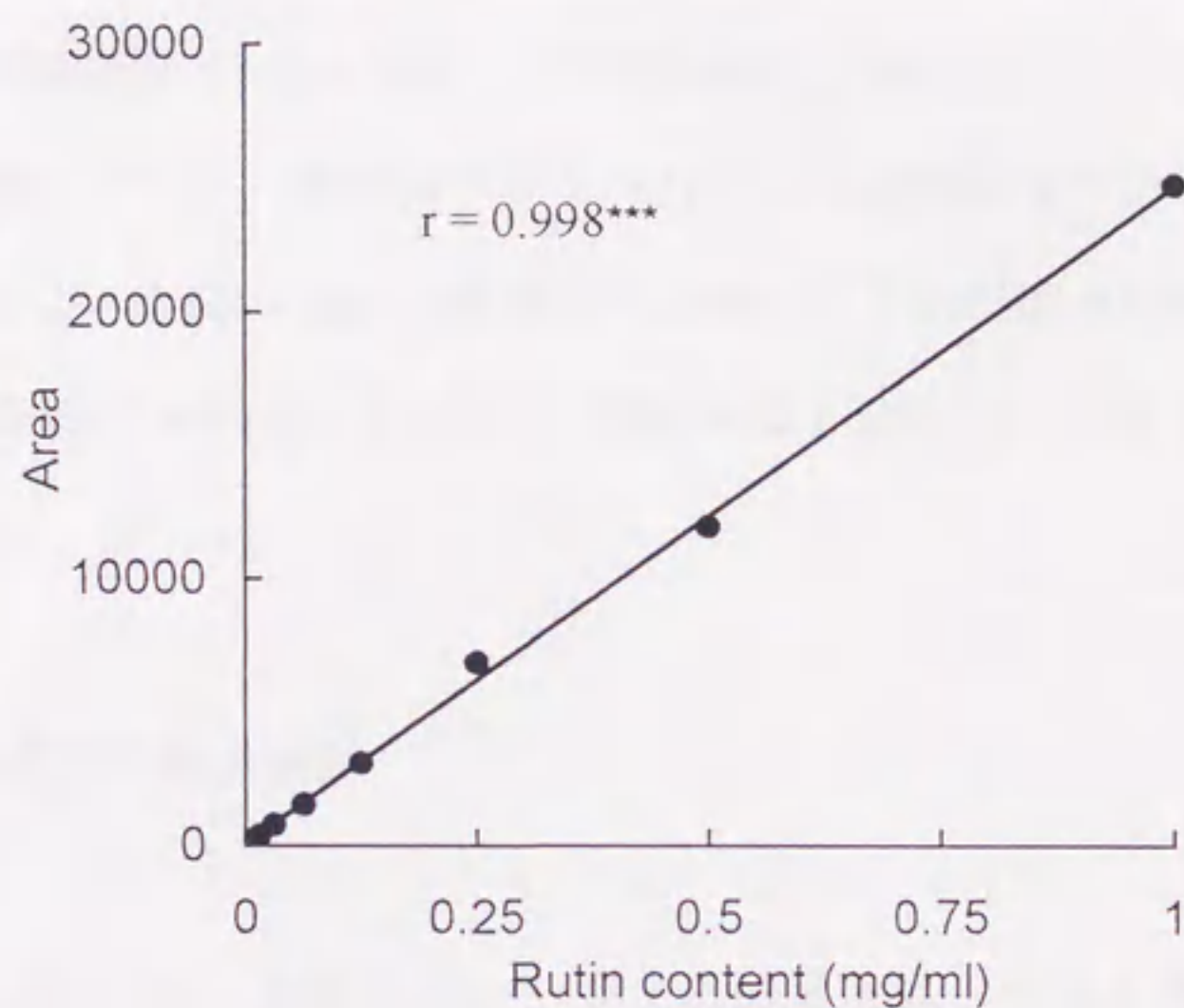


Fig. 2-1. Calibration graph for rutin in HPLC.

第3節 試料調製法の検討

試料の調製条件すなわち試料の乾燥、粉碎、抽出の各条件について検討し、最適な条件を定量法として決定した。

1. 試料の保存および試料溶液の調製

小原らによると、ソバ粉に水を加え製麺する工程でソバ粉中のルチンが減少することが認められ、その主たる原因としてソバ粉中に含まれるルチン分解酵素

素が関与しているとの報告⁽⁵⁵⁾がなされている。そこで、本実験ではこの点について考慮し、試料の取扱いには十分に留意した。定量のための種子、葉および茎等の試料は実験圃場より採取した直後に -30°C の冷凍庫内に保存した。その後、試料を東京理化器械社製定温恒温器(WFO-600ND)にて加熱乾燥し、National社製粉碎器(MK-52M)により粉碎し、得られた粉末試料からルチンを抽出し定量を行った。抽出はメタノールによる加熱還流を行い、東洋製作所製ウォーターバス(LB-260)を使用して加熱した。試料溶液の濾過は岩城硝子社製遠心分離器(CMF-100)で行い、濾過後の上澄み $20\mu\text{l}$ をHPLC用の試験溶液とした。

2. 試料の乾燥条件の検討

種子と葉について、加熱を行い、完全に乾燥される時間を調査した。また、試料中での乾燥に伴うルチンの消長について調査を行った。

なお、試料の乾燥方法は、凍結乾燥法が理想的と考えられるが、本実験では定量が多数点に及ぶことを考慮して、簡便な方法である加熱乾燥法を採用した。また、通常の種子、葉の乾燥はしま立て、ハザがけを通して天日で除々に行われることが多いことから、乾燥のための温度は極端な高温を避けた。科学技術庁資源調査会編「四訂食品成分表」(1989)の試料乾燥法によると、温度に対して不安定な生鮮食品などのサンプルは 70°C で乾燥が行われていることを参考にして、実験での乾燥温度は全て 70°C とした。

(1) 材料および方法

種子と葉について、 15g を乾燥器により 70°C で加熱し、その後24時間まで

に6回それぞれの重量を測定した。

また、種子と葉の乾燥にともなうルチンの消長を明らかにするため、異なる乾燥時間で24時間までに数回のサンプリングを行い、HPLCによりルチン含量の測定を行った。対照として、同一の試料を凍結乾燥させ、ルチン含量を定量した。粉碎条件は種子では5gを30秒間、葉では2gを30秒間粉碎し、抽出は種子、葉とも0.5gの粉末試料を20mlのメタノールにより70℃で30分間行った。なお、ルチン含量は乾物に対しての測定が基準であるため、上述の実験で求めた含水率でルチン含量の測定値を補正した。

(2) 結果および考察

試料重量の変化を Fig. 2-2 に示した。種子重量がほぼ一定となる乾燥時間は6～13時間であり、葉では13時間以上の乾燥が必要であった。

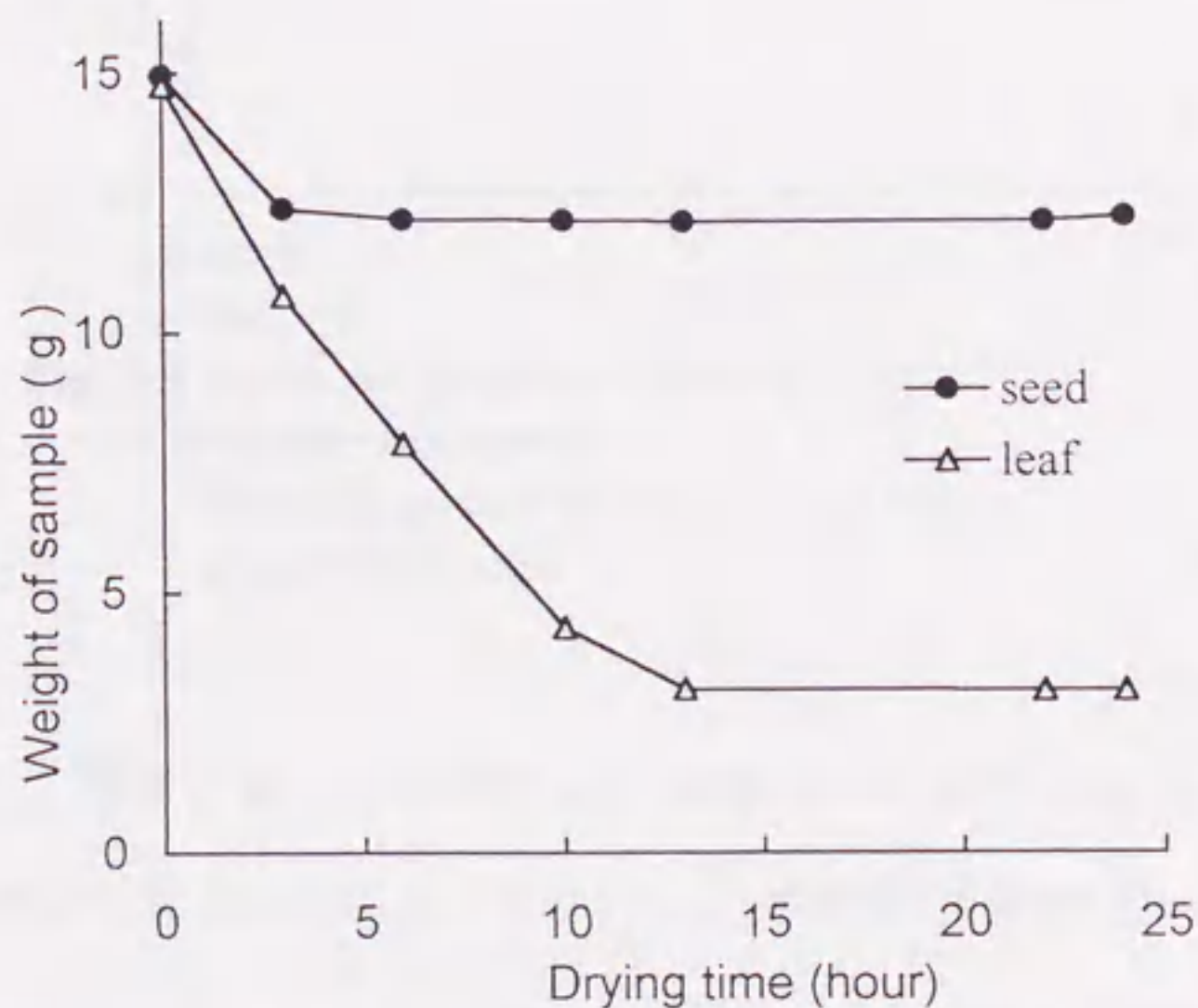


Fig. 2-2. Relationship between a drying time at 70 °C and the weight of sample.

加熱乾燥に伴うルチンの消長について Fig. 2-3 に示した。対照の凍結乾燥による試料のルチン含量を 100 % とすると、種子では 12 時間乾燥で 6.7 %、24 時間乾燥で 7.0 % のルチンが減少した。葉では、12 時間乾燥で 1.6 %、24 時間乾燥で 2.0 % のルチンの減少がみられた。このことから、種子、葉ともに 12 時間乾燥と 24 時間乾燥のルチン含量にはさほど差が認められないことが明らかとなった。

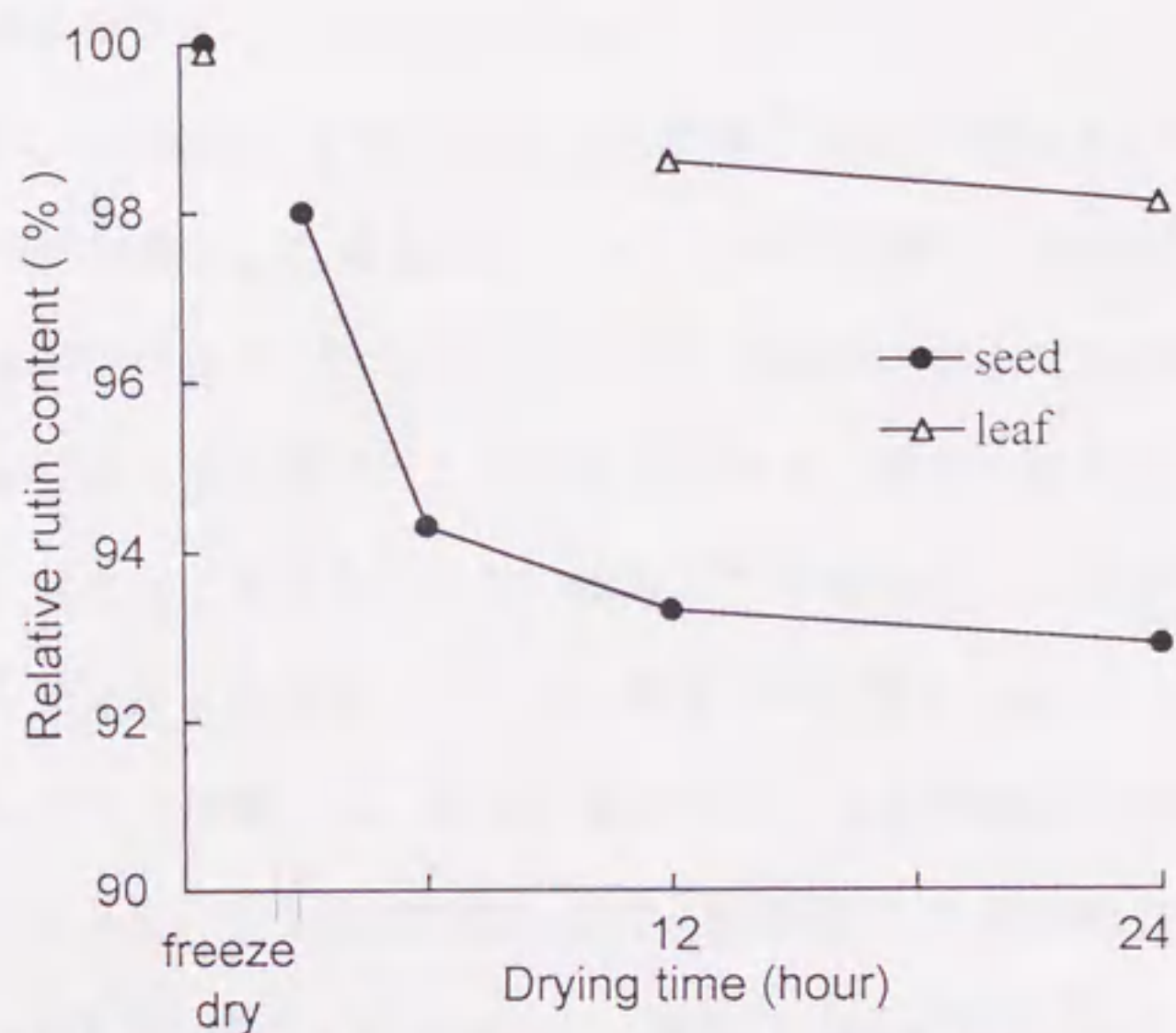


Fig. 2-3. Relationship between a drying time at 70 and the rutin content.
The rutin content by freeze drying method is a hundred per cent.

したがって、種子、葉の乾燥時間は 12 時間から 24 時間が適当と考えられたが、試料を完全に乾燥させることを前提に、本実験の乾燥時間は 24 時間に決定した。

3. 試料の粉碎条件の検討

試料の粉碎重量および粉碎時間が異なると、粉碎される程度が微妙に異なり、その結果、抽出されるルチンの量が変動すると推測される。したがって、粉碎重量とルチン含量の関係について検討し、また、粉碎時間とルチン含量の関係についても検討を行った。

(1) 材料および方法

供試材料は、普通ソバとダツタンソバの種子および普通ソバの葉を用いた。種子で、両種を対象とした理由は、ダツタンソバの種子には普通ソバの10倍以上のルチンが含まれる^(56, 74, 87)ことから、定量法の検討にあたっては両種を独立に扱う必要があると考えたためである。また、葉については、両種の間でルチン含量にほとんど差がみられない報告^(36, 49)があり、また葉の物理的な性質についてもほとんど差は無いことから普通ソバの葉を代表として供試した。

粉碎重量に関する実験では、種子、葉とも十分な量の試料を70℃で24時間加熱乾燥後、1～5gの5段階に取り分け、粉碎器で30秒間粉碎した。種子では粉碎試料1gを10mlのメタノールで、葉では0.5gを20mlのメタノールで70℃で30分間の抽出を行い、抽出液のルチン含量を測定した。

粉碎時間とルチン含量の関係を調べるため、種子では5g、葉では2gを10～120秒の4水準で粉碎し、上述の方法で抽出を行い、ルチン含量を測定した。

(2) 結果および考察

Fig. 2-4 に粉碎重量の変化によるルチン含量測定値の変動を相対比率で示した。

ダットンソバの種子と葉では粉碎重量の変化により大きな変動はみられなかったが、普通ソバの種子では大きな変動が認められたため、特に粉碎重量には注意が必要であると考えられた。いずれの試料においても、4～5gの粉碎でルチン含量は最も高い測定値を示した。したがって、普通ソバ、ダットンソバともに粉碎重量は5gを採用した。一方、葉では粉碎のために5gの葉を得るためには品種・系統によっては100枚以上の葉が必要となり採取に労力を要するが、2g粉碎の測定値と5g粉碎の測定値でほとんど差が無かったことを考慮し、粉碎重量は2gとした。なお、葉の採取時のサンプリング誤差を低減するため、葉は20個体以上の個体内の最大葉を採取し、乾燥後十分に混合した後に2gを取り粉碎することとした。

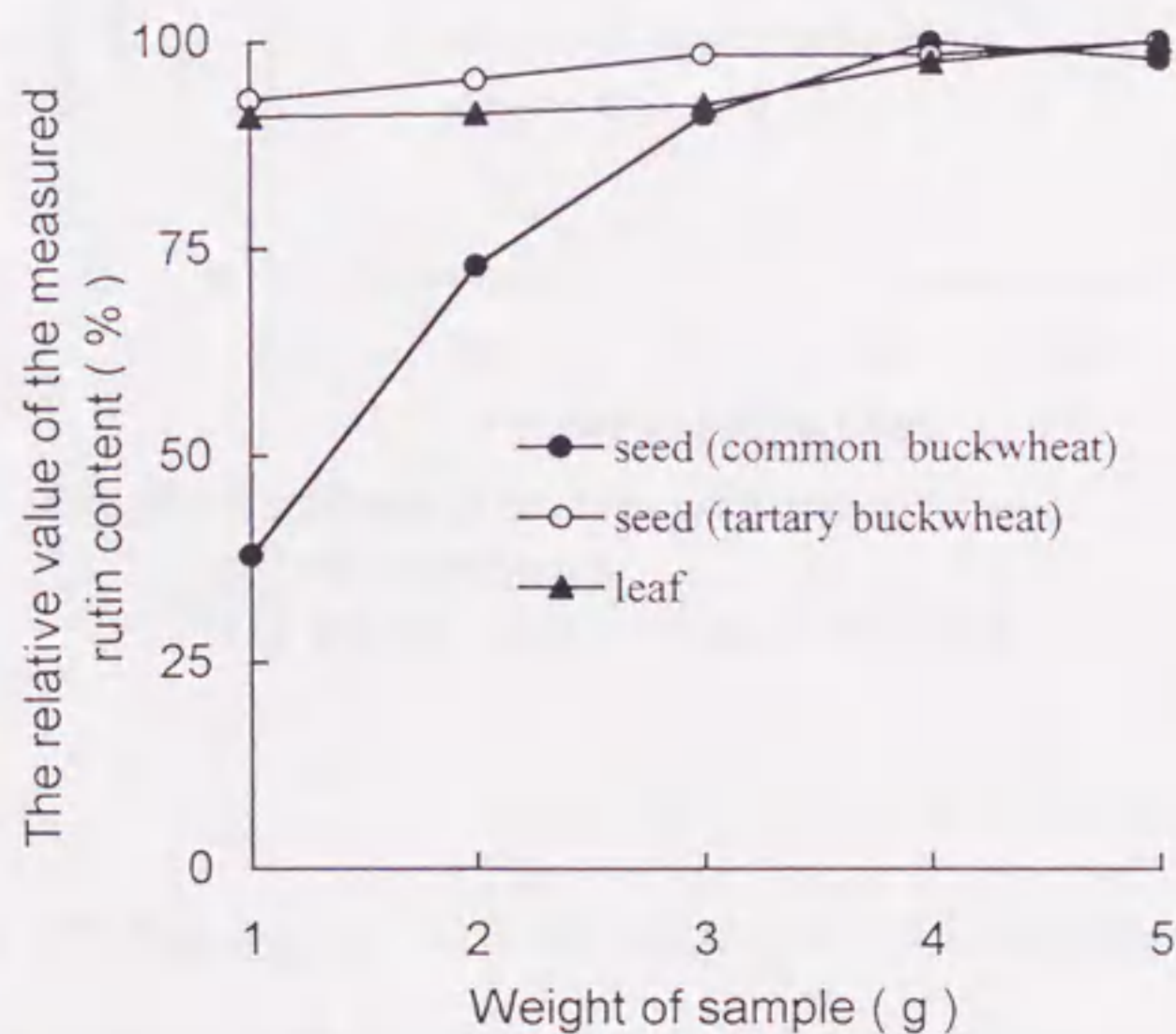


Fig. 2-4. Relationship between the sample weight and the rutin content.
The greatest value is a hundred per cent.

粉砕時間とルチン含量の測定値の関係を Fig. 2-5 に示した. すべての試料で 30 秒の粉砕によりルチン含量の測定値は最大になったことから, 普通ソバ, ダツタンソバの種子および両種の葉いずれも粉砕時間は 30 秒と決定した. 30 秒以上の粉砕時間では若干の減少がみられたが, 過度な粉砕による発熱が原因と推測された.

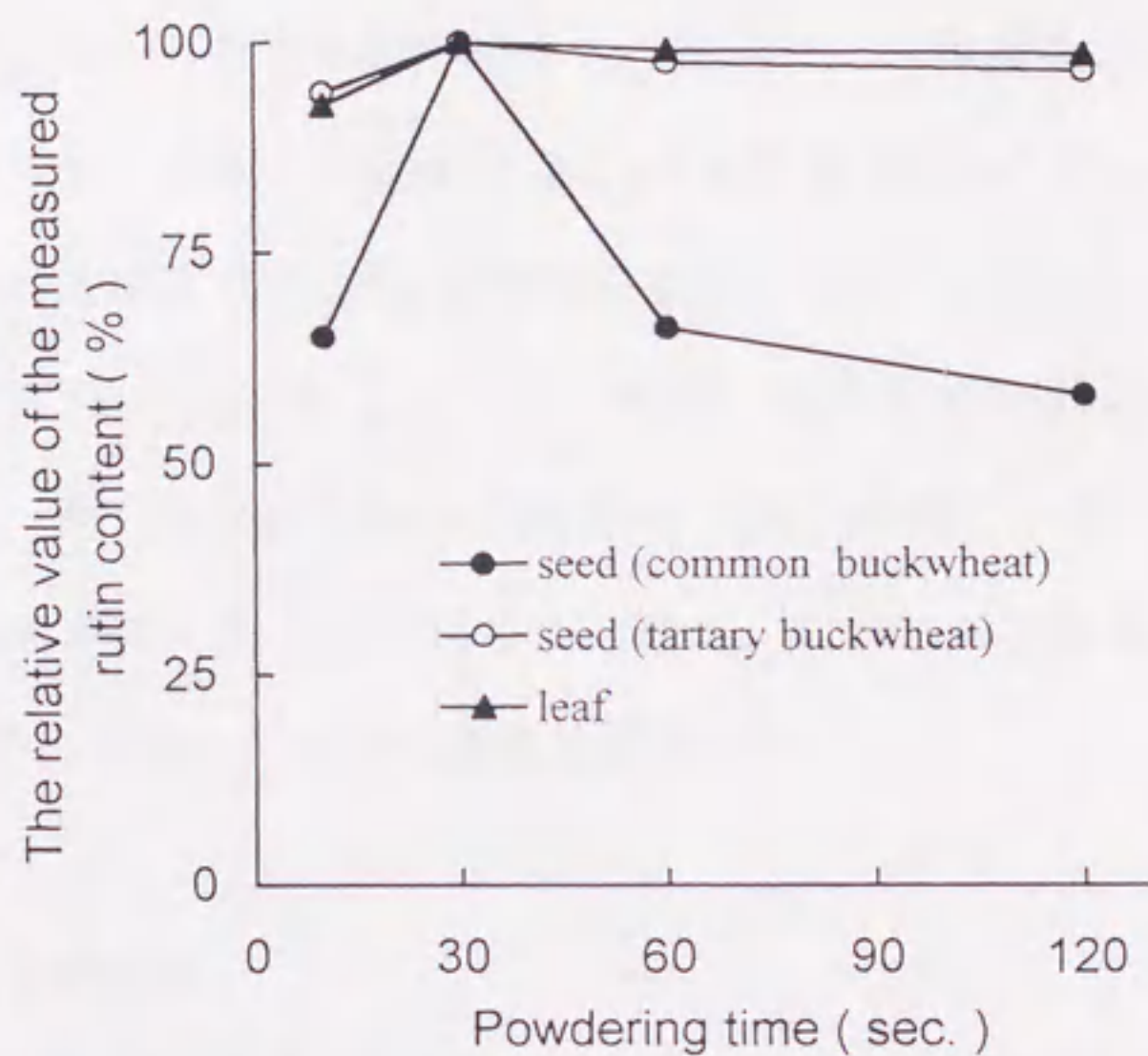


Fig. 2-5. Relationship between the powdering time and the rutin content.
The greatest value is a hundred per cent.

以上のことから粉砕条件は, 種子では普通ソバ, ダツタンソバともに 5 g を 30 秒間粉砕し, 葉では普通ソバ, ダツタンソバともに 2 g を 30 秒間粉砕するのが最適であると判断した.

4. ルチン抽出条件の検討

適切な抽出時間を決定するため、抽出時間とルチン含量の関係について調査した。

(1) 材料および方法

普通ソバ、ダツタンソバの種子および普通ソバの葉を供試した。ダツタンソバの葉を供試しなかった理由は前述した。抽出は、粉碎重量、および抽出器の容量等を考慮して、普通ソバの種子では 1.0 g を 10 ml のメタノールで、ダツタンソバの種子および葉では 0.5 g を 20 ml で抽出することとした。抽出の温度は、いずれの抽出においても 70 °C とした。乾燥、粉碎方法は前項の結果に従い種子では 5 g を、葉では 2 g を 30 秒間粉碎し、抽出時間を 5 分から 60 分の 5 水準に設定し各水準のルチンを測定した。また、対照として室温（約 20 °C）で 120 分の抽出をおこない、ルチン含量を定量した。

(2) 結果および考察

抽出時間とルチンの測定値の関係を Fig. 2-6 に示した。この図から、ルチンは比較的短時間で抽出されることが明らかになり、両種の種子とも 20 分から 30 分の間にルチン含量は最大値を示した。また、葉では 30 分で最大となった。このことから種子、葉のいずれも 30 分の抽出が最適と決定した。なお、対照の室温（約 20 °C）で 120 分の抽出では、加熱抽出に対して、葉では 70 % が抽出されたが、種子では 25 % から 35 % の抽出にとどまり、加熱することにより抽出が短時間で効率よく行われることが明らかとなった。

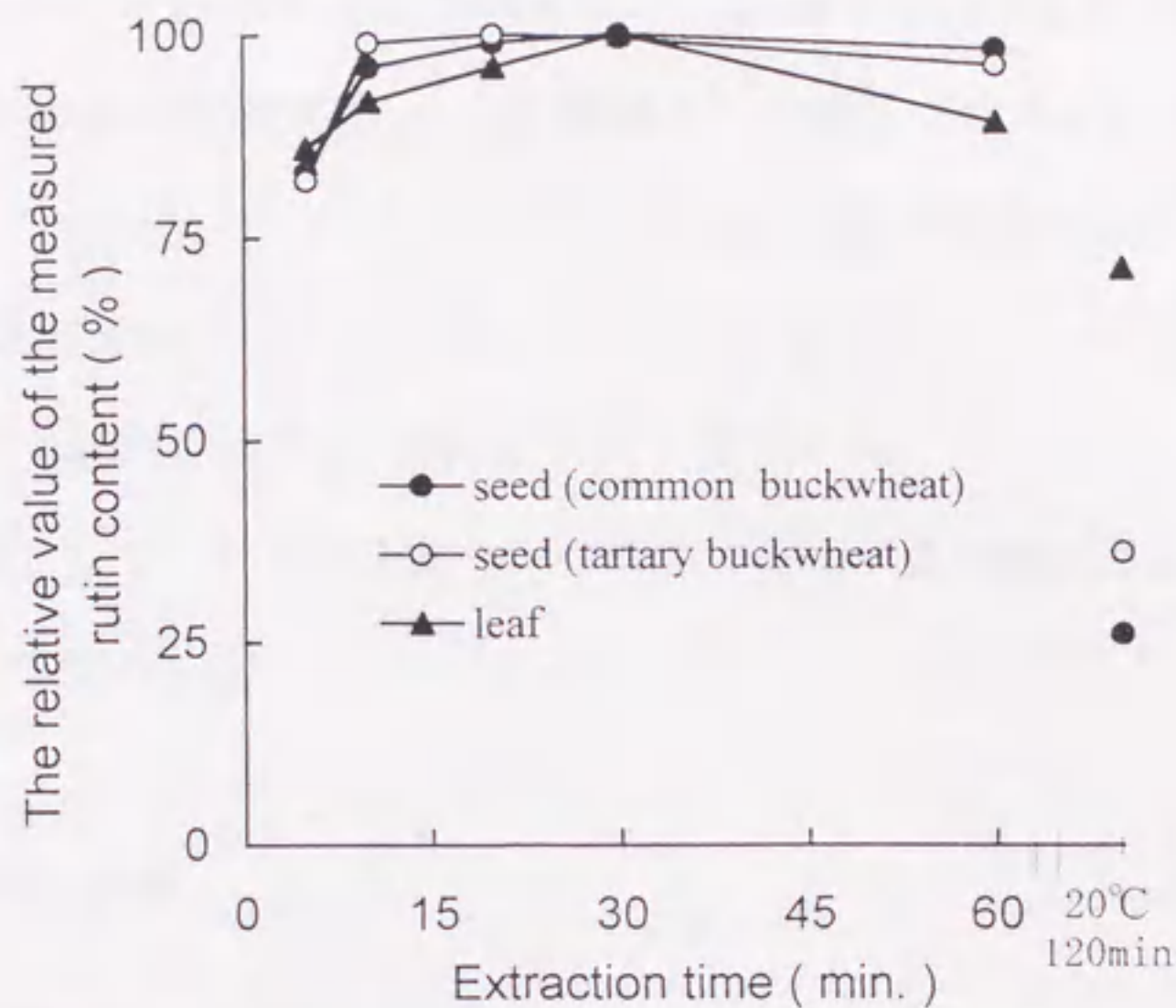


Fig. 2-6. Relationship between the extraction time and the rutin content.
The greatest value is a hundred per cent.

第4節 試料調製法の決定および定量誤差

1. 試料調製法の決定

当初、同一試料を供試してルチンを定量したところ、測定誤差は変動係数で30%以上のかかなり大きな数値であった。誤差の主要因を探るため、乾燥（第3節2）、粉砕（第3節3）、抽出（第3節4）、測定（第2節）の各段階で前述のように実験を行ったところ、乾燥、粉砕が誤差の主要因として特定され、それぞれ適切な条件が明らかになった。

本研究では、最終的に次のように試料調製法を決定し、次章以下の定量は全

てこの方法に従った。決定した試料調製法は以下の通りである。

① 試料を 70 °C で 24 時間加熱乾燥する。 ② 種子では 5 g を 30 秒間粉砕し、葉では 2 g を 30 秒間粉砕する。 ③ 普通ソバの種子では 1.0 g の粉末試料を 10 ml のメタノールで、ダツタンソバの種子および葉（両種とも）では 0.5 g の粉末試料を 20 ml のメタノールで 70 °C 30 分の抽出を行う。 ④ 遠心分離後の上澄み 20 μ l を試料溶液とし、HPLC により定量する。

なお、例外として、個体間変異などの調査では種子量が制約されるため、粉砕重量は 2 g で統一した。

2. 定量誤差の把握

同一試料の反復定量により、ルチン含量の定量誤差を明らかにした。

(1) 材料および方法

Table 2-1 に示した普通ソバとダツタンソバの種子と葉について、2 g および 5 g の粉砕条件で、6 回から 24 回にわたりルチンを反復定量し平均値と変動係数を求めた。定量は乾燥、粉砕、抽出、測定 of 工程を経て行われるが、反復定量は乾燥の段階から区別したため、測定値には、乾燥、粉砕、抽出、測定で発生した全ての誤差が含まれている。

(2) 結果および考察

Table 2-1 に測定値の平均値、標準偏差および変動係数を示した。普通ソバ種子の 2 g 粉砕の場合を除いて、全般的には変動係数で 5 % 前後と比較的高い精度を示した。したがって、本定量法は十分な精度を有すると判断され、2 g

から 5 g 程度の少量のサンプルでソバのルチン含量を正確に定量することが可能となった。このことは、サンプル量があまり得られないような実験、例えば個体間変異の実験などが可能となることから、今後の研究および実際の育種の場面で大いに意義あることと考えられる。

Table 2-1. The error of measurement of rutin content

Weight for powdering	2 g			5 g	
	Common buckwheat seed	Tartary buckwheat seed	Leaf	Common buckwheat seed	Tartary buckwheat seed
Number of trials	11	12	6	24	24
Mean value (mg/100gDW)	13.6	1512	3229	15.4	1523
S.D. ¹⁾ (mg/100gDW)	1.4	76.7	107.6	0.94	37.7
C.V. ²⁾ (%)	10.79	5.07	3.33	6.09	2.47

1) Standard deviation 2) Coefficient of variation

第5節 摘要

(1) 高性能液体クロマトグラフィ(HPLC)によるルチン測定法を決定し、装置の測定精度を検討した。

ルチン濃度とピーク面積は十分に直線的であり、また、HPLC装置の測定精度は変動係数で0.97%とかなり高かった。

(2) 普通ソバおよびダツタンソバの種子および葉について、ルチン定量のための試料調製法を検討した。

試料の粉碎程度により、抽出されるルチンの量は大きな変動を示し、粉碎条件は定量における最も大きな誤差要因であった。

(3) 普通ソバおよびダツタンソバの種子および葉について、ルチン含量の定量のために最適な乾燥方法、粉碎方法、抽出方法が決定され、定量誤差が明らかにされた。

1) ルチン含量の定量誤差は、変動係数で約5%と高い精度を示した。

2) 開発された定量法により2g程度の試料で精度の高い定量が可能となった。このことは個体間変異に関する研究を可能にし、意義あることと考えられた。

第3章 普通ソバにおけるルチン含量の品種・系統間ならびに 個体間変異

第1節 緒言

当初、普通ソバのルチン含量に関する研究はルチンの製造原料を得る目的で葉について行われたことはすでに述べた通りである。普通ソバの種子については古沢らがルチンの存在を認め^(13, 14)、その後、種子中のルチンを HPLC などで効率的に精度よく定量する方法^(53, 54, 74)が確立されて以来、種子中のルチン含量についての関心が高まってきた。

しかしながら、普通ソバの種子ルチン含量に関する品種間差の報告はわずかにみられる^(15, 16, 56, 74)が、いずれも予備的な観察に限られており、ルチン含量の育種に際して重要な品種・系統間変異や遺伝率などの研究は全く行われていない。

そこで本章では、まずルチン含量の品種・系統間変異を明らかにするとともに遺伝率を推定した。次に、これまでに報告例のない系統内におけるルチン含量の遺伝変異を明らかにするために、選抜による親子相関を解析した。さらに、1992年から1994年にかけて種子ルチン含量の個体選抜を実施し、選抜の効果を検討し、ルチン高含量系統の育成のための知見を得た。

第2節 普通ソバのルチン含量に関する品種・系統間変異について

主要な栽培国から導入した普通ソバの品種・系統を供試し、2か年にわたり

種子および葉のルチン含量および主要特性について調査を行い、品種・系統間変異を明らかにした。さらにルチン含量と他形質との関係あるいは収集地域との関係などについても解析した。また、分散分析により各形質の遺伝率の推定を試みた。

1. 材料および方法

1983 年から信州大学農学部植物育種学研究室により収集された日本産 8 品種（四倍体の 3 品種を含む）、ヨーロッパ産 7 品種、中国産 5 系統およびネパール産 7 系統の計 27 品種・系統を供試した（Table 3-1）。供試系統の集収地の緯度は中国産の 25°N からヨーロッパ産の 55°N までで、標高は 100 m からネパール産の 3,800 m までであり、本実験では広範囲から収集された品種・系統を供試した。栽培は、信州大学農学部附属農場において 1992 年および 1993 年に、2 反復の乱塊法で行った。両年度とも施肥は行わず、条間 20 cm、株間 10 cm で各系統 40 から 50 個体を栽培した。1992 年は 8 月 8 日に播種し、葉を播種後 1 か月目に採取し、完熟種子を 10 月 28 日に収穫し、それぞれルチンを定量した。1993 年は 7 月 21 日に播種を行い、葉を播種後 1 か月目に採取し、完熟種子を 11 月 9 日に収穫しルチンの定量を行った。その他の調査は、第 1 花開花まで日数、個体当り稔実粒重および 1,000 粒重などについて行った。

得られた測定値について分散分析を行い、遺伝分散および環境分散の成分から遺伝率を推定した^(68, 84)。また、ルチン含量と諸形質間の表現型の相関係数を各年ごとに求めた。

ルチンの定量法については前章において詳細に述べたので省略する。

Table 3-1. Source and collection site of cultivars and local strains used in this study

Cultivar or local strain	Country or collection site	Year of introduction or collection	Altitude (m) of collection site
Japanese cultivars (Diploid)			
Botan-Soba	Hokkaido	1986	100
Kitawase-Soba	Hokkaido	1992	100
Shinano-No.1	Nagano	1985	700
Hitachi-Akisoba	Ibaraki	1986	150
Kyushu-Akisoba	Miyazaki	1986	100
Japanese cultivars (Tetraploid)			
Hokkei-No.1	Hokkaido	1986	100
Shinshu-Ohsoba	Nagano	1991	700
Miyazaki-Ohtubu	Miyazaki	1983	100
Chinese strains			
Yunnan-1	Kunming, Yunnan	1988	1800
Yunnan-2	Kunming, Yunnan	1988	1800
Guizhou	Guizhou	1989	
Yulin	Yulin, Shaanxi	1989	1500
Taolin	Taolin, Shandong	1988	
Nepalese strains			
Matathati	Central Nepal	1990	1240
Tatopani	Central Nepal	1990	1300
Khinger	Central Nepal	1991	3650
Jarkot-1	Central Nepal	1988	3700
Jarkot-2	Central Nepal	1991	3700
Chhenga	Central Nepal	1991	3800
Muktinath	Central Nepal	1991	3800
European cultivars			
Bogatyř'	ex-U.S.S.R.	1983	
Adja Tlacina ¹⁾	ex-Yugoslavia	1985	
Sokurovskaja ¹⁾	ex-Yugoslavia	1985	
LA HARPE ²⁾	France	1987	
BRUSVILY ²⁾	France	1987	
SAINT CONGARD ²⁾	France	1987	
Local variety ²⁾	France	1987	

1) Introduced from Lyjubuliana University.

2) Introduced from Station D'Amelioration Des Plantes.

2. 結果および考察

1992年と、1993年のルチン含量および主要形質についての2反復の平均値をそれぞれ Table 3-2 と Table 3-3 に示した。第1花開花まで日数は普通ソバの生態型を表す指標として重要な形質であるが、中国産系統 Taolin の約20日からネパール産系統 Matathati の約30日までと幅広い変異を示し、供試系統は短期間で開花に至る夏型から開花に長期間を要する秋型までを包含していた。

Table 3-4 に供試した各品種・系統の種子および葉のルチン含量の2年間の平均値を示した。結果を概観すると、種子のルチン含量は Tatopani (ネパール産在来系統) の 35.9 mg/100g 乾物重(DW)から Bogatyr' (ロシア産品種) の 12.6 mg/100 g DW までと約3倍の幅広い変異を示した。また、葉のルチン含量は、北系1号 (日本産品種) の 1,880 mg/100 g DW から Khinger (ネパール産在来系統) の 3,600 mg/100 g DW までの変異を示した。

倍数性について比較すると、日本産の四倍体品種は二倍体品種にくらべ種子ルチン含量が高い傾向がみられた (Table 3-4, Fig. 3-1)。より詳細に検討するため分散分析を行ったところ、Table 3-5 のように種子ルチン含量について二倍体と四倍体の間で1%水準で有意差が認められた。このことは、鈴木らの実験結果⁽⁷⁴⁾ともほぼ一致している。一方、葉ルチン含量では分散分析の結果 (Table 3-5) から倍数体間に有意な差は認められなかった。このことに関して川谷らも同様の報告⁽³⁶⁾をしている。これに関連して、普通ソバの倍数性による成分含量の差異に関する研究は、タンパク質含量、アミノ酸含量、脂質および炭水化物含量で行われ、タンパク質含量が二倍体にくらべ四倍体に多く含まれていること、アミノ酸含量、脂質および炭水化物では両者で差が認められないこと⁽⁴⁰⁾などが報告されている。

Table 3-2. Mean values of rutin content and main characters in common buckwheat, cultivated in 1992

Cultivar or Strain	Rutin content (mg/100gDW)		Main characters		
	in seed	in leaf	Days to first flowering (days)	1000 seed weight (g)	seed weight /plant (g)
Japanese cultivars (Diploid)					
Botan-Soba	15.7	2230	21.5	31.3	6.8
Kitawase-Soba	19.7	1780	19.5	30.5	6.7
Shinano-No.1	18.3	2100	24.0	28.5	10.0
Hitachi-Akisoba	19.8	2130	24.5	31.8	6.2
Kyushu-Akisoba	14.4	2530	25.0	25.9	2.9
Japanese cultivars (Tetraploid)					
Hokkei-No.1	19.4	1520	21.0	53.7	3.8
Shinshu-Ohsoba	22.3	2460	25.0	41.5	3.9
Miyazaki-Ohtubu	24.8	2220	26.0	37.4	2.6
Chinese strains					
Yunnan-1	20.2	2270	22.5	27.9	4.8
Yunnan-2	18.3	1400	26.0	23.8	1.2
Guizhou	15.5	1920	21.0	25.9	3.4
Yulin	11.2	1770	22.5	32.1	6.5
Taolin	15.9	1730	18.5	31.1	7.1
Nepalese strains					
Matathati	32.7	2400	29.0	21.9	0.8
Tatopani	35.6	2790	28.0	21.7	0.5
Khinger	35.7	3180	27.0	18.6	0.3
Jarkot-1	14.4	2620	25.0	20.5	1.0
Jarkot-2	18.2	2950	25.0	21.0	1.4
Chhenga	17.9	2020	24.5	20.0	1.1
Muktinath	27.1	2710	25.0	22.5	1.8
European cultivars					
Bogatyr'	11.6	2860	23.0	23.0	4.4
Adja Tlacina	10.7	2110	24.0	22.9	3.6
Sokurovskaja	11.5	2190	22.0	29.5	3.8
LA HARPE	12.8	3070	24.0	23.7	4.3
BRUSVILY	12.2	2300	24.0	19.0	5.0
SAINT CONGARD	17.3	1930	24.0	16.3	4.7
Local variety	14.4	1626	23.5	17.4	5.8

Table 3-3. Mean values of rutin content and main characters in common buckwheat, cultivated in 1993

Cultivar or Strain	Rutin content (mg/100gDW)		Main characters		
	in seed	in leaf	Days to first flowering (days)	1000 seed weight (g)	seed weight /plant (g)
Japanese cultivars (Diploid)					
Botan-Soba	17.0	3230	23.0	25.0	1.9
Kitawase-Soba	18.0	2540	22.0	24.9	1.5
Shinano-No.1	12.8	3660	26.0	21.2	1.7
Hitachi-Akisoba	14.2	3200	26.5	24.4	2.9
Kyushu-Akisoba	14.6	3590	27.0	17.3	1.3
Japanese cultivars (Tetraploid)					
Hokkei-No.1	22.1	2230	23.5	36.4	1.0
Shinshu-Ohsoba	17.7	4140	29.5	36.8	2.7
Miyazaki-Ohtubu	19.4	3270	29.0	26.3	2.0
Chinese strains					
Yunnan-1	18.5	3130	23.5	23.7	1.3
Yunnan-2	24.4	2490	25.5	14.8	1.5
Guizhou	18.4	2570	23.0	19.8	2.0
Yulin	21.9	2360	24.5	20.7	0.4
Taolin	15.0	2610	21.0	18.3	0.4
Nepalese strains					
Matathati	37.2	3240	32.0	14.3	0.2
Tatopani	36.2	3600	31.5	15.7	1.0
Khinger	28.8	4030	26.0	9.0	0.1
Jarkot-1	16.9	3510	26.5	14.2	1.1
Jarkot-2	25.6	3140	26.5	12.8	0.8
Chhenga	14.6	3310	25.0	13.6	0.6
Muktinath	23.2	3780	26.5	11.3	0.1
European cultivars					
Bogatyr'	13.6	2910	23.5	21.0	0.8
Adja Tlacina	16.7	2720	24.0	18.7	0.5
Sokurovskaja	17.5	2450	23.5	21.7	0.4
LA HARPE	23.5	2900	25.5	19.9	0.7
BRUSVILY	19.9	2980	26.0	15.6	0.6
SAINT CONGARD	27.1	2580	25.0	16.5	0.7
Local variety	23.3	2900	25.0	15.2	0.3

Table 3-4. Mean values of rutin content in common buckwheat, cultivated in 1992 and 1993

Cultivar or Strain	Rutin content	
	in seed (mg/100gDW)	in leaf (mg/100gDW)
Japanese cultivars (Diploid)		
Botan-Soba	16.4	2730
Kitawase-Soba	18.9	2160
Shinano-No.1	15.5	2880
Hitachi-Akisoba	17.0	2670
Kyushu-Akisoba	14.5	3060
Japanese cultivars (Tetraploid)		
Hokkei-No.1	20.8	1880
Shinshu-Ohsoba	20.0	3300
Miyazaki-Ohtubu	22.1	2750
Chinese strains		
Yunnan-1	19.4	2700
Yunnan-2	21.3	1950
Guizhou	16.9	2240
Yulin	16.6	2060
Taolin	15.5	2170
Nepalese strains		
Matathati	34.9	2820
Tatopani	35.9	3190
Khinger	32.3	3600
Jarkot-1	15.7	3070
Jarkot-2	21.9	3050
Chhenga	16.2	2660
Muktinath	25.1	3240
European cultivars		
Bogatyř'	12.6	2880
Adja Tlacina	13.7	2420
Sokurovskaja	14.5	2320
LA HARPE	18.1	2990
BRUSVILY	16.0	2640
SAINT CONGARD	22.2	2260
Local variety	18.8	2270

Table 3-5. Analysis of variance for rutin content in diploid and tetraploid cultivars of Japanese common buckwheat

Sources of variation	Degree of freedom	F-values		Formula of F-value
		Rutin content in seed	Rutin content in leaf	
Year (Y)	1	1418.1***	39.9*	MS_Y / MS_R
Block (R)	2	0.0	3.2	MS_R / MS_E
Variety (V)	7	2.5	7.2**	$MS_V / MS_{Y \times V}$

Between ploidy	1	13.0**	0.2	
Within diploids	4	0.9	3.8	
Within tetraploids	2	0.4	17.3**	

Y × V	7	1.3	1.5	$MS_{Y \times V} / MS_E$
Error (E)	14			

*, **, *** : Significant at 5, 1 and 0.1%, respectively.

$$E[MS_Y] = \sigma^2_E + 8\sigma^2_R + 16\sigma^2_Y, \quad E[MS_R] = \sigma^2_E + 8\sigma^2_R,$$

$$E[MS_V] = \sigma^2_E + 4\sigma^2_V + 2\sigma^2_{Y \times V}, \quad E[MS_{Y \times V}] = \sigma^2_E + 2\sigma^2_{Y \times V}, \quad E[MS_E] = \sigma^2_E$$

四倍体品種を除いて、二倍体品種間のルチン含量および主要形質について Table 3-6 のように分散分析をおこなったところ、1 株稔実粒重の品種を除いた全ての形質において有意な年次間差と品種間差が認められた。種子ルチン含量および葉ルチン含量でも品種間差が有意に認められ、育種を進める上で重要な知見と考えられる。また、地域間で種子および葉ルチン含量にかなり大きな有意差が認められた。Fig. 3-1 に各供試品種・系統の種子ルチン含量の 4 反復にお

Table 3-6. Analysis of variance for rutin content and main characters in common buckwheat(Diploid)

Sources of variation	Degree of freedom	F-values					Formula of F-value
		Rutin content		Main characters			
		in seed	in leaf	Days to first flowering	1000 seed weight	Seed weight /plant	
Year (Y)	1	28.8*	45.8*	49.9*	246.3***	168.1***	MS_Y / MS_R
Block (R)	2	0.4	3.2*	3.1	1.5	3.8*	MS_R / MS_E
Variety (V)	23	5.7***	4.6***	21.6***	7.9***	1.4	$MS_V / MS_{Y \times V}$

Between areas	3	18.9***	19.4***	74.0***	39.4***	8.0***	
Within Japanese	4	0.4	2.8*	19.4***	3.4*	1.3	
Within Chinese	4	0.8	2.1	17.8***	3.3*	0.6	
Within Nepalese	6	10.0***	2.3	18.5***	1.0	0.1	
Within European	6	1.5	2.3	2.5	5.0**	0.1	

Y × V	23	2.3**	1.6	3.2***	3.4***	17.7***	$MS_{Y \times V} / MS_E$
Error (E)	46						

*, **, *** : Significant at 5, 1, and 0.1 %, respectively.

$$E[MS_Y] = \sigma^2_E + 24 \sigma^2_R + 48 \sigma^2_Y, \quad E[MS_R] = \sigma^2_E + 24 \sigma^2_R,$$

$$E[MS_V] = \sigma^2_E + 4 \sigma^2_V + 2 \sigma^2_{Y \times V}, \quad E[MS_{Y \times V}] = \sigma^2_E + 2 \sigma^2_{Y \times V},$$

$$E[MS_E] = \sigma^2_E$$

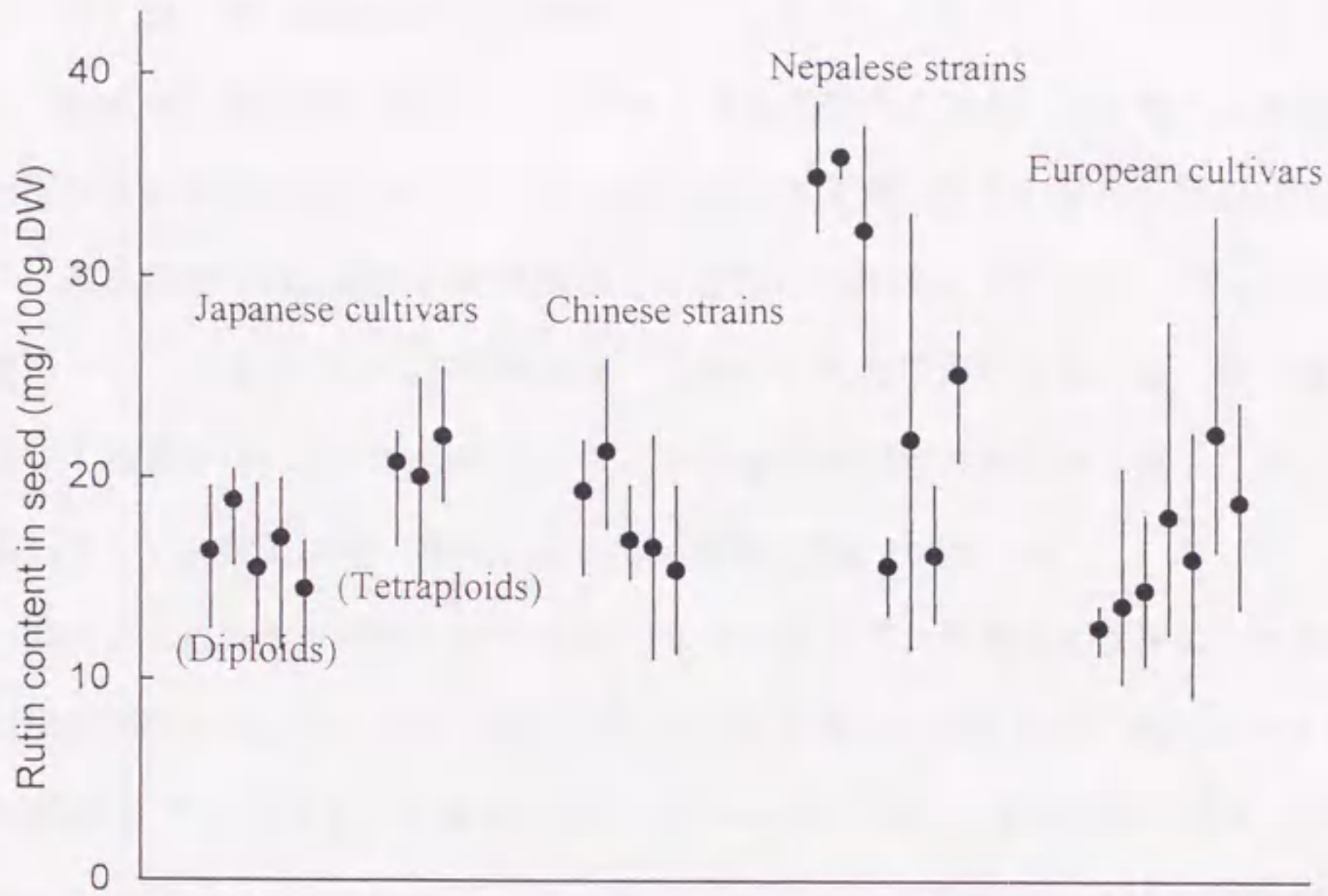


Fig. 3-1. Mean and range of seed rutin content in common buckwheat cultivar or strain in 1992 and 1993 .

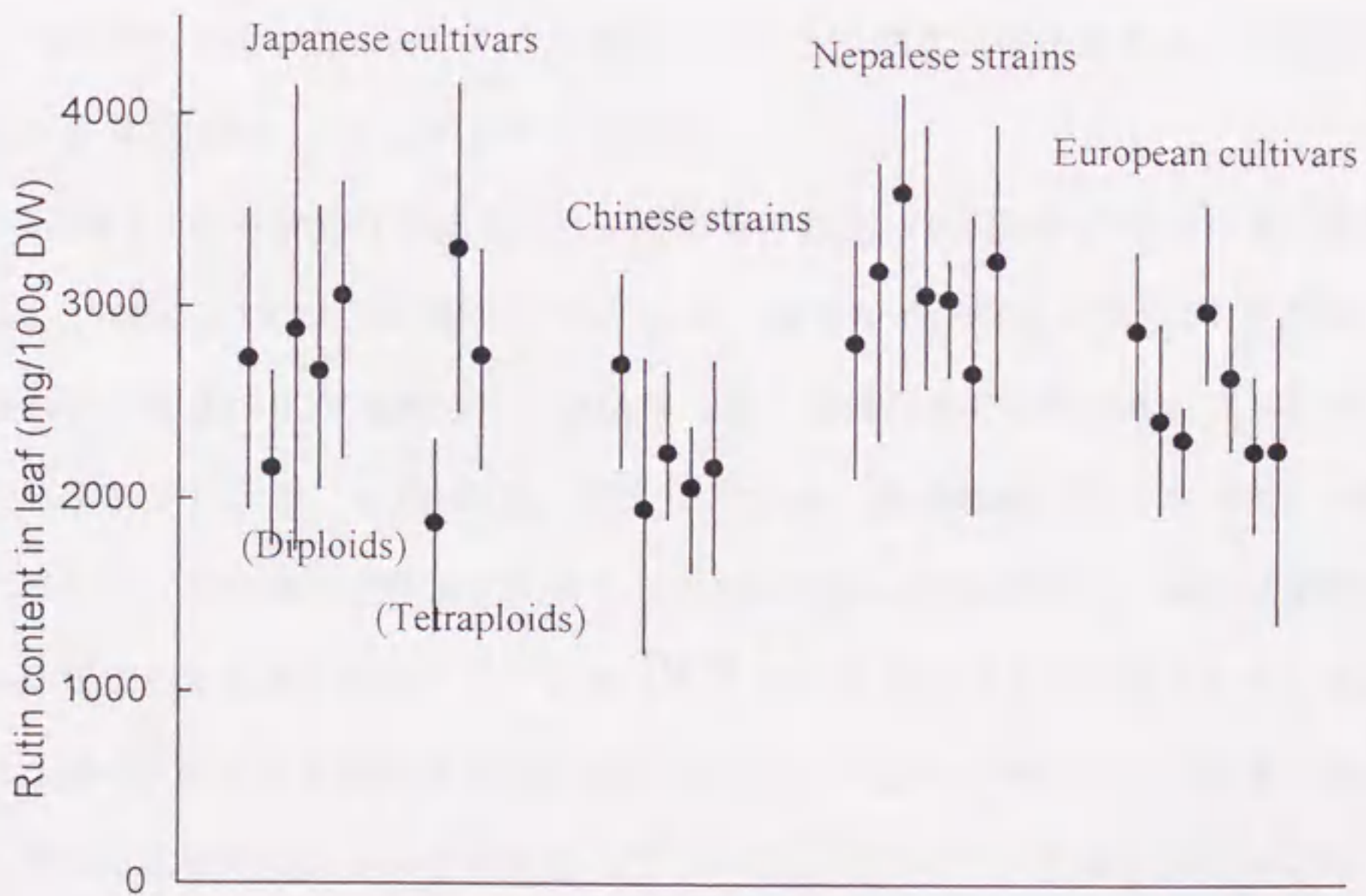


Fig. 3-2. Mean and range of leaf rutin content in common buckwheat cultivar or strain in 1992 and 1993 .

ける最大値，最小値および平均値を示した。ネパール産のいくつかの系統，特に Matathati, Tatopani, Khinger にルチンが多く含まれており，一方で日本産品種と同程度の系統も見られ，ネパール内にはかなり大きな変異の存在が認められた。日本産品種群では地域内の変異はほとんど認められなかった。また，Fig 3-2 に葉のルチン含量について各供試品種・系統の 4 反復における最大値，最小値および平均値を示した。全般的に，ネパール産系統が他の地域の品種・系統と比較してルチン含量が高い傾向を示したが顕著な差ではなかった。

年次による変動を明確にするため，Fig 3-3 にルチン含量と主要形質の年次間の相関関係を示した。1992 年と 1993 年の測定値の相関係数は，種子ルチン含量が 0.73 ***，葉ルチン含量が 0.64 *** であった。また，主要形質については，第 1 花開花まで日数および 1,000 粒重でそれぞれ 0.91 ***，0.78 *** と相関係数は比較的高く，1 株稔実粒重では 0.34 ns と低かった。葉ルチン含量と第 1 花開花まで日数では，1993 年が 1992 年にくらべかなり高い値を示したが，このような年次間の違いは 1993 年の夏期にみられた極端な日照不足および気温低下などの気象条件によるものと考えられた。

Table 3-6 の分散分析の結果から，遺伝分散および環境分散の成分を求め遺伝率を Table 3-7 のように推定したところ，種子ルチン含量の遺伝率は 0.59 で，葉ルチン含量は 0.25 であった。遺伝率は第 1 花開花まで日数が最も高く，次いで種子ルチン含量，1,000 粒重，葉ルチン含量，稔実粒重の順であった。一般にイネなどの作物では粒重や粒長などの種子形質は遺伝率が高く選抜効率の高い形質であることが認められている^(35, 79)が，今回の結果から種子ルチン含量は 1,000 粒重よりも遺伝率が高く推定されたことから，種子ルチン含量の選抜の効率は比較的高いものと考えられる。一方，葉のルチン含量は遺伝率が低く，環境により大きな変動を示す形質であることが明らかとなった。

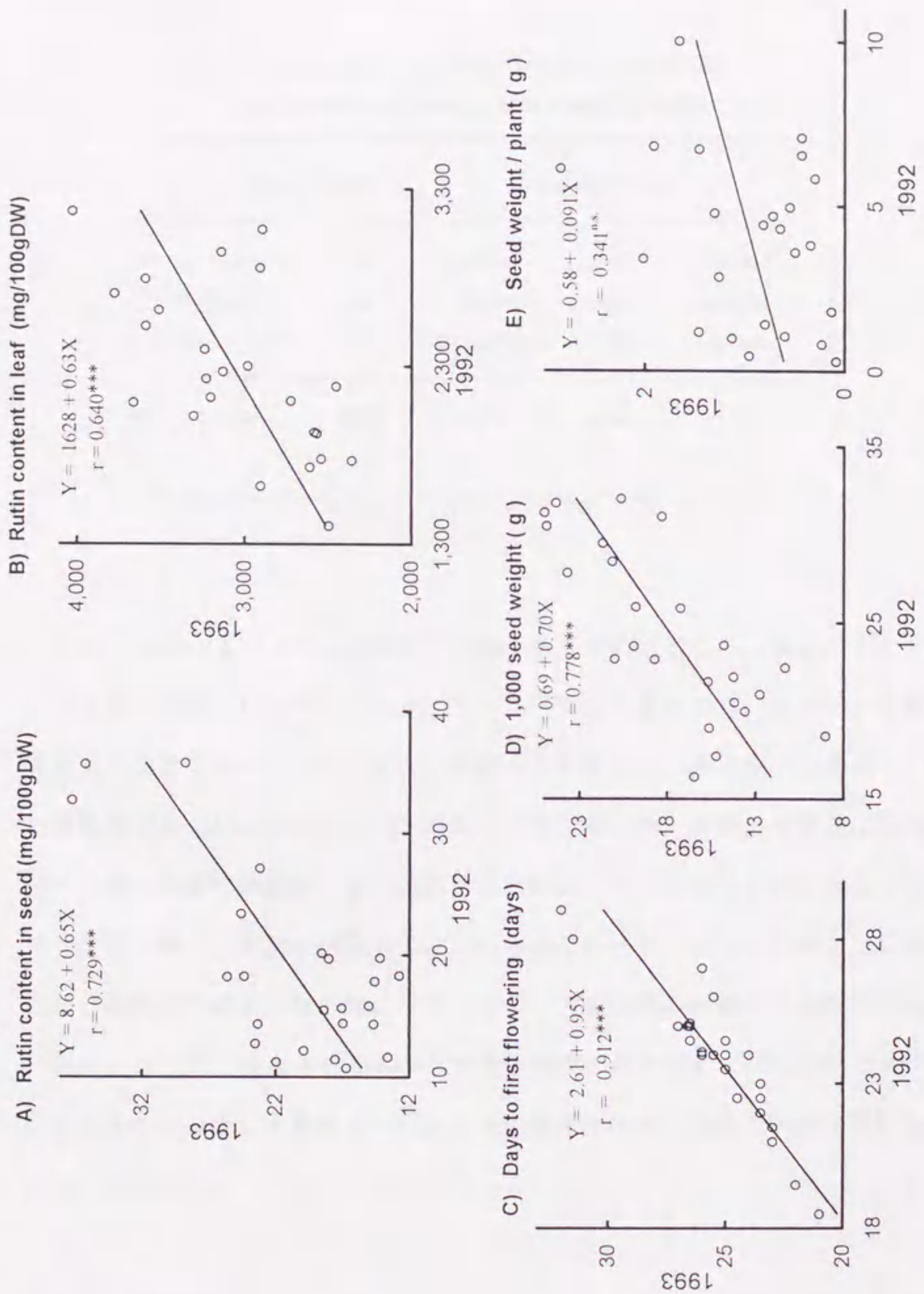


Fig.3-3. Year to year correlation for rutin content and main characters in common buckwheat, 1992 and 1993.

Table 3-7. Estimation of heritability¹⁾ for rutin content and main characters in common buckwheat(Diploid)

Rutin content		Main characters		
in seed	in leaf	Days to first flowering	1000 seed weight	Seed weight /plant
0.59	0.25	0.75	0.38	0.07

$$1) E[h^2] = \sigma^2_V / (\sigma^2_R + \sigma^2_Y + \sigma^2_V + \sigma^2_{YXV} + \sigma^2_E)$$

次に、Table 3-8 のように形質間の相関係数を求めたところ、種子ルチン含量と開花まで日数で 0.61** から 0.69*** の正の相関が認められ、葉ルチン含量と開花まで日数で 0.46* から 0.54** の相関が認められた。種子ルチン含量と 1 株稔実粒重では -0.41* から -0.48* の負の相関がみられ、ルチン含量と収量性に関する遺伝相関の検討が今後の課題と思われる。さらに種子ルチン含量と葉ルチン含量の間には有意な相関関係は認められなかった。また、供試した品種・系統の収集地の標高と種子および葉のルチン含量の間の相関係数を両年において求めたところ、1992 年の葉ルチン含量と標高の間で有意な相関 ($r = 0.49^*$) がみられたのみで、本実験からは収集地の標高とルチン含量の明確な関係は認められなかった。

Table 3-8. Correlation matrix among rutin content and main characters
in common buckwheat(Diploid) in 1992 and 1993.

	1000 seed weight	Seed weight /plant	Rutin content in seed	Rutin content in leaf
(1992)				
Days to 1st. flow.	- 0.58**	- 0.68***	0.61**	0.46*
1000 seed wt.	-	0.59**	- 0.24	- 0.32
Seed wt. / plant		-	- 0.48*	- 0.45*
Rutin cont. in seed			-	0.36
(1993)				
Days to 1st. flow.	- 0.49*	- 0.13	0.69***	0.54**
1000 seed wt.	-	0.60**	- 0.52**	- 0.44*
Seed wt. / plant		-	- 0.41*	- 0.02
Rutin cont. in seed			-	0.15

*, **, *** : Significant at 5, 1, and 0.1%, respectively.

普通ソバの種子ルチン含量の品種間差異については、これまでに若干の報告がなされているが、世界各地から導入した供試系統を用いた報告例はほとんどない。古沢らは日本の各地から収集した品種・系統のルチン含量を定量したが、明確な品種・系統間差異を認めていない⁽¹⁶⁾。しかし、大澤らは主として日本産 12 品種・系統を供試し差のあることを認めている⁽⁵⁶⁾。本実験では、世界の広範囲から導入した系統を供試した結果、日本産の品種間にくらべ地域によってかなり大きな変異が存在することが明らかとなった。特に、ネパール産の系統群にはルチン含量が日本産品種の 2 倍以上の系統が存在し、これらの系統は育種素材として有用であると考えられた。また本実験から、種子ルチン含

量の遺伝率を推定したところ、種子ルチン含量は1,000粒重より高い数値を示し、種子ルチン含量に関する系統の選抜の可能性が示唆された。しかし、実用品種の育成のためには、種子ルチン含量と農業形質例えば収量性や環境ストレスなどとの遺伝相関について十分に検討される必要がある。

葉のルチン含量に関しても、品種間差に関する研究はほとんど行われていない。McGregorらは17系統について3年間にわたり葉ルチン含量を調査した結果、品種間差は認められなかったが、ルチン含量の年平均値が2.85から5.04%まで大きく変動し、年次間できわめて高い有意差が認められることを報告した⁽⁴⁹⁾。本実験は2か年各2反復の実験で、有意な品種・系統間差を認めたが（Table 3-6）、年次間差にくらべると品種間差はかなり小さいことは明確で、McGregorらの結果とほぼ一致している。このような葉のルチン含量の変動の大きいことは、栽培条件の差異、特に日射条件の違いによるものと考えられ、鈴木らは栽培時の照度によりルチン含量が変動することを報告している⁽⁷⁴⁾。

第3節 普通ソバの種子ルチン含量に関する個体間変異について

種子ルチン含量について個体選抜を行い、母本個体と後代系統の関係について調査し、系統内における遺伝変異について解析を行った。

1. 材料および方法

信州大学農学部附属農場において、日本の代表的な品種の牡丹ソバ（夏型）と信濃1号（中間型）を供試し、1992年8月8日に条間20cm、株間10cmで播種し、その後慣行栽培を行い10月28日に個体別に種子を収穫し、種子ル

チン含量, 1,000 粒重および稔実粒重を調査した。ルチン定量後の残りの種子を 1993 年 7 月 21 日に条間 20 cm, 株間 5 cm で播種し系統栽培を行い, 牡丹ソバでは 10 月 1 日に, 信濃 1 号では 11 月 9 日に収穫し, 1992 年と同様の形質について調査を行った。

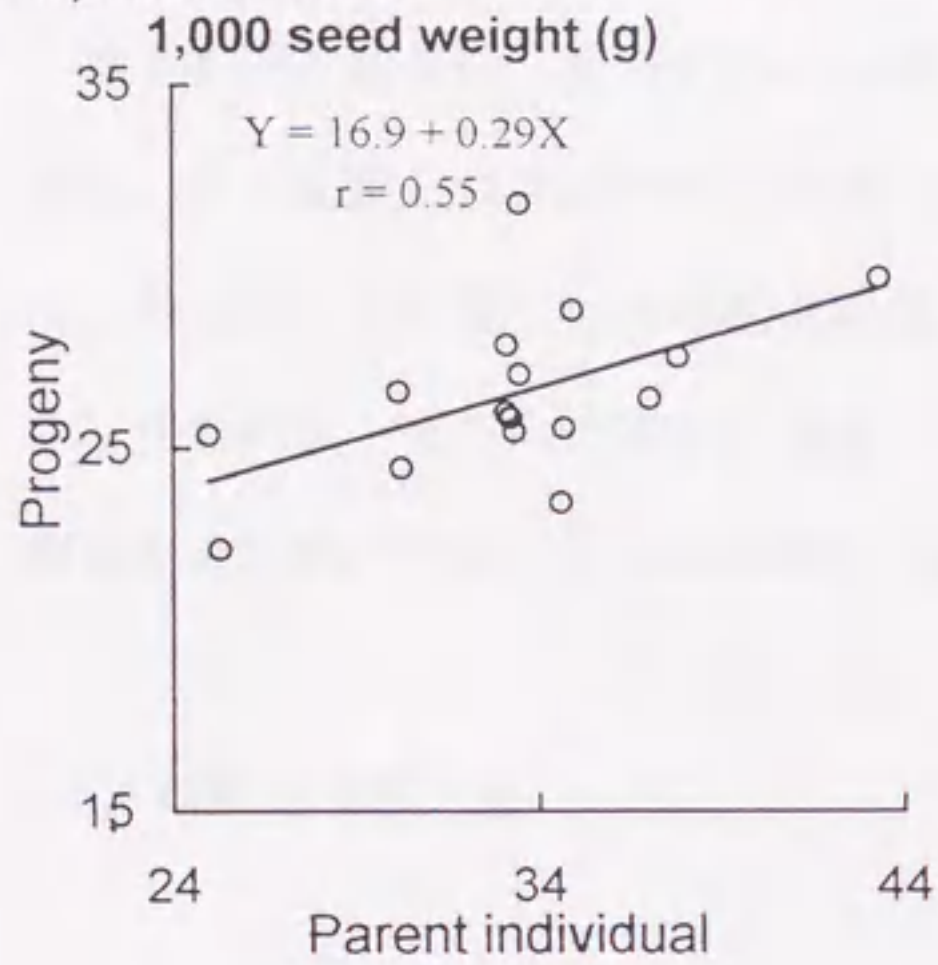
1992 年に得られた母本個体の数値と, 1993 年に得られた後代系統の数値との間で相関分析を行い, 相関係数と回帰係数を求め, 親子間の関係について解析した。

2. 結果および考察

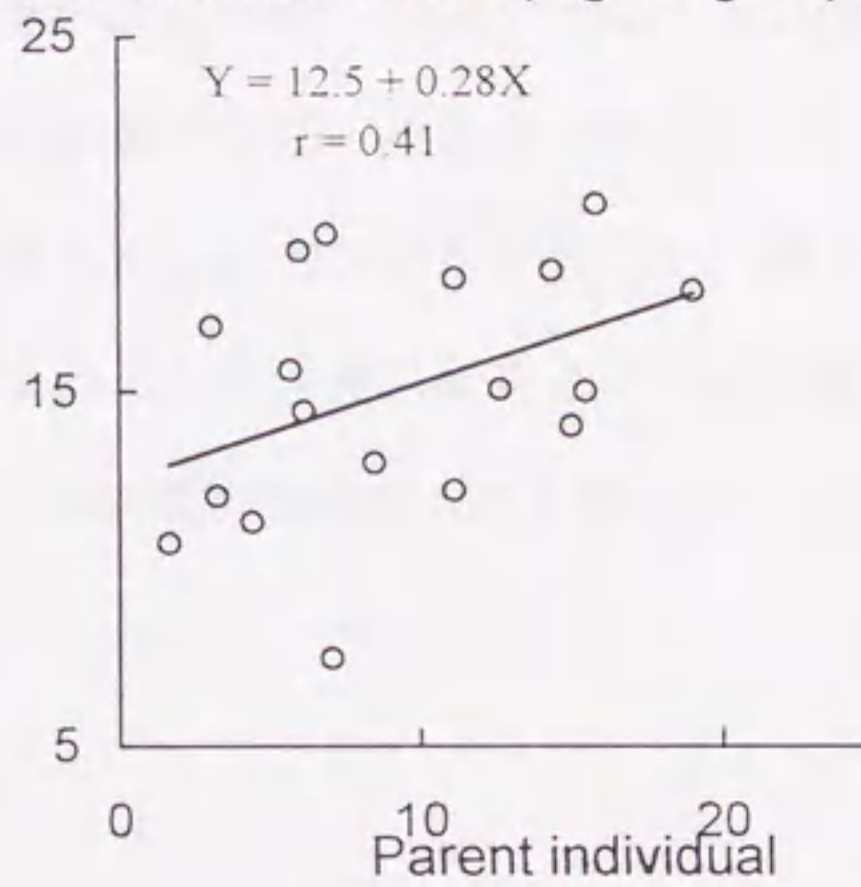
Fig. 3-4 に牡丹ソバと信濃 1 号の種子ルチン含量と 1,000 粒重の母本個体と後代系統の関係を示した。種子ルチン含量に関する母本個体と後代系統の相関係数は, 牡丹ソバと信濃 1 号でそれぞれ 0.41, 0.42 であった。また, 1,000 粒重の相関係数は, 牡丹ソバと信濃 1 号でそれぞれ 0.55, 0.53 であった。回帰係数に関しては, 種子ルチン含量では 0.18 から 0.28 で 10 mg / 100 g DW の選抜差に対して 2 から 3 mg / 100 g DW のルチン含量の増加が認められた。また, 1,000 粒重の回帰係数は 0.29 から 0.38 で, 10 g の選抜差に対して 3 から 4 g の 1,000 粒重の増加が認められた。したがって, 品種内の個体間には種子ルチン含量に関する遺伝変異が存在しているものと推測され, また 1,000 粒重についても品種内の個体間で遺伝変異が存在していた。

なお, 普通ソバは他家受精であり本実験では隔離をおこなわなかったため, 系統選抜などの選抜過程で隔離をおこなうことにより, さらに効果的な選抜がおこなえるものと思われる。

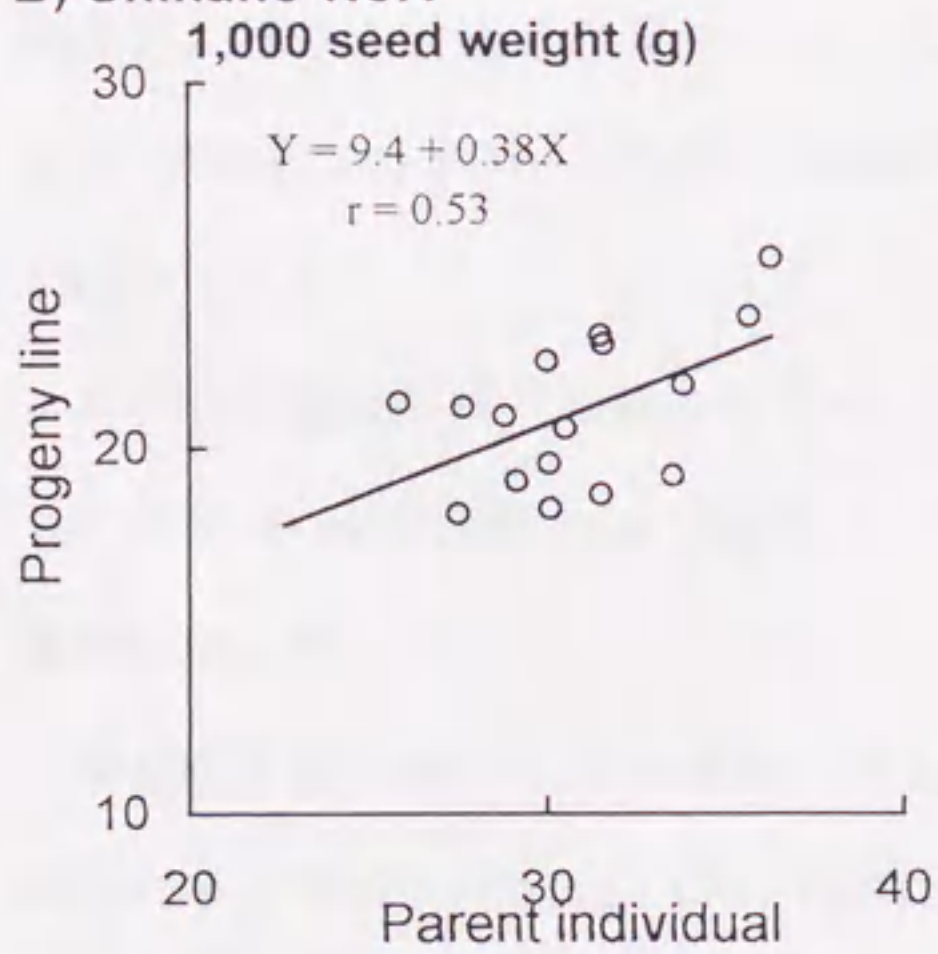
A) Botan-soba



Rutin content in seed (mg/100gDW)



B) Shinano-No.1



Rutin content in seed (mg/100gDW)

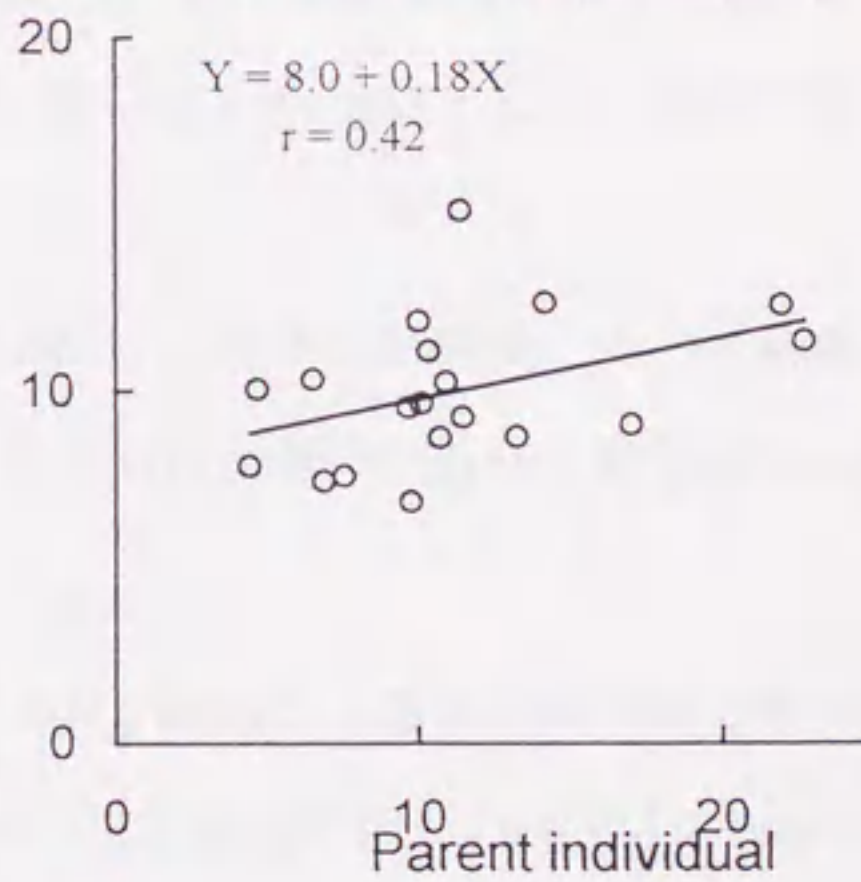


Fig. 3-4 . Correlation between parents and progeny lines in common buckwheat .

第4節 普通ソバの種子ルチン含量に関する選抜効果について

種子ルチン含量は、第2節から、遺伝率が比較的高い形質であることが推定され、第3節からは系統内の個体間で遺伝変異が存在することが明らかとなった。そこで、この節では代表的な実用品種である牡丹ソバを供試して、種子ルチン含量の高・低方向に実際に選抜を繰り返し、高含量系統あるいは低含量系統育成のための予備的な実験を行い、選抜の効果を検証することを目的とした。

1. 材料および方法

1992年8月8日に牡丹ソバを条間20 cm, 株間10 cmで播種し、10月28日に個体別に種子を収穫し、種子ルチン含量を個体別に定量したところ、No. 6個体の1.7 mg / 100 g DWからNo. 14個体の19.1 mg / 100 g DWまでの個体間変異が認められた。

ルチン定量後の残りの種子を1993年7月21日にNo. 6系統, No. 14系統として条間20 cm, 株間5 cmで播種し、10月2日に個体別に収穫し種子ルチン含量を定量した。

最も低含量のNo. 6 - 37の個体(3.9 mg / 100 g DW)と2番目に高含量であったNo. 14 - 4の個体(24.0 mg / 100 g DW)について定量後の残りの種子を1994年の4月4日にNo. 6 - 37低含量系統, No. 14 - 4高含量系統として、また、対照として無選抜の牡丹ソバを播種した。開花後は寒冷紗を用いて系統毎に隔離を行い系統内交雑を促進させ、1994年7月25日に個体別に採取を行った。その種子を、1994年7月27日にNo. 6 - 37低含量系統群, No. 14 - 4高含量系統群

および対照無選抜系統群として播種を行い、10月18日に収穫を行い種子ルチン含量を定量し、ルチン含量の選抜の効果について解析した。また、種子ルチン含量と農業形質との間の遺伝相関を把握するため、第1花開花まで日数、1,000粒重および1株稔実粒重について調査を行い検討した。

2. 結果および考察

種子ルチン含量に関する高・低方向への選抜とそれに伴うルチン含量の変化を Fig. 3-5 に示した。2回の個体選抜と1回の隔離採種を経た結果、対照系統

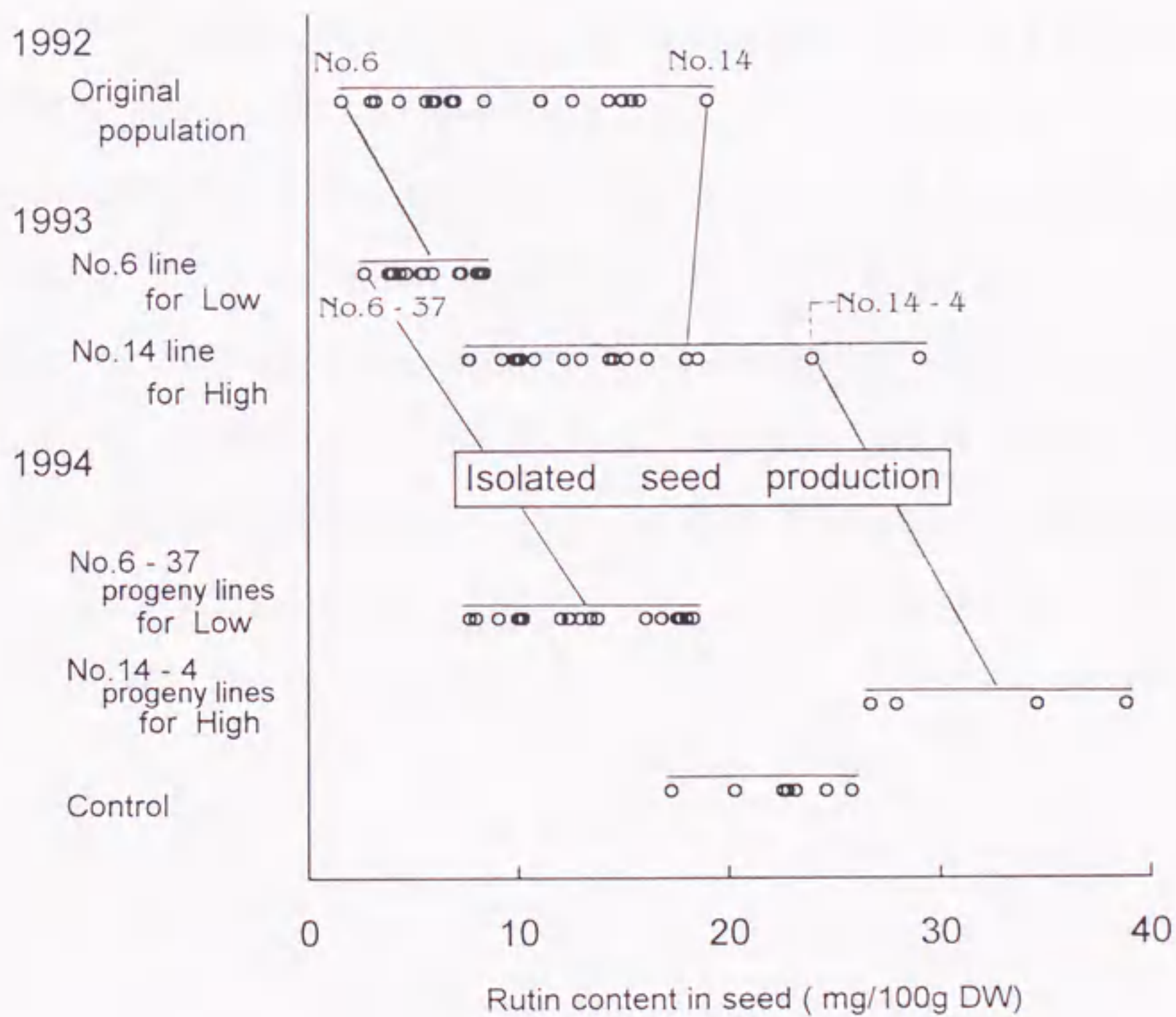


Fig. 3-5. Response to selection for seed rutin content in common buckwheat cultivar (Botan-Soba) from 1992 to 1994.

と比較して低方向への系統群および高方向への系統群ともに明確な分離が認められた。低方向の系統群のルチン含量の平均値は $13.2 \text{ mg} / 100 \text{ g DW}$ であり、高方向の系統群の平均値は $32.0 \text{ mg} / 100 \text{ g DW}$ であり、その差は約 $20 \text{ mg} / 100 \text{ g DW}$ に達した。第2節で検討した種子ルチン含量に関する品種・系統間の変異の幅は $23 \text{ mg} / 100 \text{ g DW}$ であったことから、高・低両系統群の約 $20 \text{ mg} / 100 \text{ g DW}$ の差はかなり大きな差異であると考えられる。このことから系統内の個体・系統選抜は普通ソバの種子ルチン含量を高める上で、かなり有効な手段であると結論づけられ、第2節において推定したように種子ルチン含量の遺伝率が高いことを実証するものである。

なお、第1花開花まで日数は高・低両系統群および対照無選抜系統群の間で全く差がみられなかった。第2節の品種・系統間変異の実験では種子ルチン含量と開花まで日数の間に正の相関が認められたが、この結果から種子ルチン含量と第1花開花まで日数の間に遺伝相関は存在しないであろうことが推測された。また、同じように種子ルチン含量と収量性の際に負の相関がみられたが、ルチン含量の高・低方向への選抜によって1株稔実粒重は変動することはなかった。成分育種を進める上で、特にタンパク質含量や脂質などでは、高含量は一般に高収量性と結び付きにくいとされている⁽¹⁷⁾が、ルチン含量の改良によって主要形質が変化しなかった点に関して、ルチンの高含量系統を育成する上で好都合と思われる。

第5節 摘要

(1) 普通ソバの種子および葉のルチン含量に関する品種・系統間差および遺伝率を明らかにするため、世界の主要な栽培国から導入した 27 品種・系統を供試し、2 か年各 2 反復の乱塊法で栽培を行い、種子ルチン含量、播種後 1 か月目の葉のルチン含量および主要形質について調査した。

- 1) 種子のルチン含量は 12.6 mg/100 g DW から 35.9 mg/100 g DW までの変異を示し、有意な品種・系統間差が認められた。
- 2) 葉のルチン含量は 1,876 mg/100 g DW から 3,602 mg/100 g DW までの変異を示し、有意な品種・系統間差が認められた。
- 3) 種子ルチン含量は四倍体品種が二倍体品種に比べ有意に高かったが、葉ルチン含量では倍数体間で有意差は認められなかった。
- 4) 供試系統の導入地域間で高度な有意差が認められ、種子についてはネパール産系統は変異の幅が広く、育種素材として有用であると考えられた。
- 5) 種子と葉のルチン含量についての年次間の相関係数は、それぞれ 0.73***、0.64*** で比較的高い数値を示した。
- 6) 分散分析から推定した広義の遺伝率は、種子と葉のルチン含量でそれぞれ 0.59、0.24 であり、種子ルチン含量に関する育種の可能性が示唆された。
- 7) 種子ルチン含量と第 1 花開花まで日数の間で正の、1 株稔実粒重との間で負の表現型相関が認められたため、今後は遺伝相関について検討を加える必要がある。

(2) 普通ソバの種子ルチン含量に関して、系統内の遺伝変異を明らかにするため、2品種について種子ルチン含量の個体選抜を行い、母本個体と後代系統の関係について調査した。

- 1) 種子ルチン含量の親子回帰係数は0.2から0.3であった。
- 2) 種子ルチン含量に関して品種内の個体間には遺伝変異が存在しているものと推測された。

(3) 普通ソバの品種（牡丹ソバ）を用いて種子ルチン含量の、高・低両方向への2回の個体選抜と1回の隔離採種を実施した後、系統に展開し種子ルチン含量の選抜の効果を検討した。

- 1) 種子ルチン含量の高・低両方向への選抜によって平均で32.0 mg/100 g DW と 13.2 mg/100 g DW の系統が分離し、無選抜の対照系統と明確な差が認められた。
- 2) 普通ソバの種子ルチン含量に関して、系統内での個体・系統選抜は、高含量の系統を育成する上でかなり有効かつ実用的な手段と考えられた。
- 3) ルチン含量の改良によって開花まで日数および収量性などの主要形質が変化することはなく、ルチンの高含量系統を育成する上で好都合と思われる。

第4章 ダツタンソバにおけるルチン含量の品種・系統間 ならびに個体間変異

第1節 緒言

ソバの栽培種には普通ソバ (*Fagopyrum esculentum* Moench) とダツタンソバ (*F. tataricum* Gaertn.) の2種が存在する。ダツタンソバは子実に苦みを含むことから日本ではほとんど栽培されていないが、主として中国南西部からヒマラヤ諸国にかけて栽培されており、山岳地帯では重要な作物の一つとなっている。普通ソバが異型花柱性に基づく他殖性であるのに対し、ダツタンソバは自殖性であることから受精、結実の効率も優れ、茎も硬く倒伏しにくいなどの特性をもち、高収量でしかも年次間の収量性は安定しているといわれている (1, 38)。

緒論においてダツタンソバに関する研究の概要は述べたが、ルチンの生産性を上げることが目的として、葉のルチン含量に関する普通ソバとの種間差の研究が主に行われてきた (10, 32, 36, 49, 64-67)。また、生育ステージの違いや葉の乾燥条件とルチン含量の関係についてもいくつかの報告がみられる (52, 57, 74)。しかしながら、葉のルチン含量に関する品種や系統間差の有無あるいは遺伝的な変異などについての育種学的な研究はこれまでに行われていない。

また、種子のルチン含量に関しては、近年まで定量が行われなかったが、1983年に Shevchuk がダツタンソバの種子ルチン含量を報告して (64) 以来、鈴木ら (74) および大澤ら (56) も普通ソバにくらべダツタンソバの種子にかなり多くのルチンが含まれていることを報告した。しかしながら、ダツタンソバの種子ルチン含量に関する品種・系統間変異あるいは遺伝率などの一連の育種学的

研究は、葉の場合と同様に行われていないのが現状である。

そこで本章では、世界の主要な栽培国から導入したダットンソバの品種・系統を供試し、ルチン含量および栽培上の主要形質を2年間にわたって調査し、系統間差および遺伝率を明らかにするとともに、ルチン含量と主要形質との間の相関関係についても解析を行った。

さらに、種子ルチン含量の個体間の遺伝的変異を明らかにするため、ルチン含量を対象として個体選抜を行い、母本個体と後代系統のルチン含量の相関関係についても解析を試みた。

第2節 ダットンソバのルチン含量に関する品種・系統間変異

本節では、供試16品種・系統について、種子および葉のルチン含量を測定し、並行して主要形質についても調査を行い、ルチン含量と主要形質の品種・系統間変異、遺伝率あるいは形質間の相関関係について解析した。

1. 材料および方法

供試材料として、信州大学農学部植物育種学研究室により主要な栽培国から導入された16の品種あるいは在来系統を用いた。各材料の導入あるいは収集地などについてはTable 4-1に示した通りで、ヨーロッパ産5品種・系統、ネパール産10系統および中国産1系統を供試した。

栽培は、1992年、1993年ともに2反復の乱塊法により信州大学農学部附属農場で行い、1992年8月8日と1993年7月21日に条間20cm、株間10cmで播種し、施肥は行わなかった。1992年には、収穫期に降霜があったため、1993

Table 4-1. Source and collection site of cultivars and local strains used in this study

Cultivar or local strain	Country or collection site	Year of introduction or collection	Altitude (m) of collection site
European cultivars or strains			
C-32 ¹⁾	France	1985	
C-42 ¹⁾	France	1985	
C-418 ¹⁾	France	1985	
Dolina Krm ²⁾	ex-Yugoslavia	1988	
Sakhalin	ex-U.S.S.R.	1983	
Nepalese strains			
Tatopani	Central Nepal	1990	1300
Kalopani	Central Nepal	1990	2530
Tukche	Central Nepal	1991	2550
Marpha	Central Nepal	1985	2600
Thini	Central Nepal	1991	2800
Kagbeni	Central Nepal	1991	2850
Jarkot	Central Nepal	1991	3700
Muktinath	Central Nepal	1991	3800
Kimaling	Central Nepal	1985	3800
Simikot	Western Nepal	1985	2940
Chinese strain			
Yunnan	Kunming, China	1989	1800

1) Introduced from Station D'Amelioration Des Plantes.

2) Introduced from Lyjubuliana University.

年は播種を早めた。葉の採取は兩年とも各系統につき 20 個体以上について播種後 30 日目に行った。種子の採種は、1992 年 10 月 28 日および 1993 年 11 月 9 日に行い、20 個体から完熟粒を収穫した。これらの試料を、ルチン含量の定量

まで -30°C で保存した。また、第1花開花まで日数、1,000粒重および1株あたり稔実粒重を調査した。第1花開花まで日数については、1992年は頂生花と側生花を含めて調査したが、側生花の観察にはかなりの時間を要するため1993年には頂生花のみの調査とした。

ルチン含量および主要形質について2か年各2反復あるいは1か年2反復の分散分析をおこない、品種・系統間差を解析するとともにルチン含量、第1花開花まで日数、1,000粒重および稔実粒重のそれぞれについて狭義の遺伝率を推定した。さらに、ルチン含量と主要形質間の相関係数を各年ごとに算出した。

2. 結果および考察

Table 4-2 に1992年の、Table 4-3 に1993年のルチン含量および主要形質に関する2反復の平均値を示した。第1花開花まで日数についてみると、早生のSakhalinから晩生のYunnanまでで15日弱の差がみられ、開花特性は変異に富んでいた。

また、Table 4-4 に各系統の種子および葉のルチン含量の2年間の平均値を示した。種子ルチン含量に関して、最も多い系統はKagbeni (ネパール産系統) の $1,950\text{mg}/100\text{g DW}$ であり、最も少ない系統はYunnan (中国産系統) の $1,110\text{mg}/100\text{g DW}$ であり、その差は約 $800\text{mg}/100\text{g DW}$ とかなり大きな差が認められた。一方、葉のルチン含量の範囲は、Jarkot (ネパール産系統) の $3,610\text{mg}/100\text{g DW}$ から、Muktinath (ネパール産系統) の $2,460\text{mg}/100\text{g DW}$ までであった。

ルチン含量および主要形質に関する1992年と1993年の年次間の散布図をFig. 4-1 に示した。種子および葉のルチン含量の年次間の相関係数はそれぞれ、

Table 4-2. Mean values of rutin content and main characters in tartary buckwheat, cultivated in 1992

Cultivar or Strain	Rutin content (mg/100gDW)		Main characters		
	in seed	in leaf	Days to first flowering (days)	1000 seed weight (g)	seed weight /plant (g)
European cultivars or strains					
C- 32	1160	2440	32.0	18.7	1.6
C- 42	1570	2930	30.5	14.5	3.2
C-418	1550	2540	30.5	16.3	1.5
Dolina Krm	1640	3130	29.5	16.9	5.7
Sakhalin	1650	2890	27.0	18.3	4.6
Nepalese strains					
Tatopani	1580	2000	36.0	15.9	0.7
Kalopani	1710	2200	35.5	20.6	1.7
Tukche	1800	2320	35.5	16.8	1.2
Marpha	1700	2760	35.5	17.3	1.0
Thini	1750	2330	34.5	18.0	4.0
Kagbeni	1930	2940	30.0	20.3	2.4
Jarkot	1910	3240	29.0	21.8	2.9
Muktinath	1400	1890	32.0	10.8	0.2
Kimaling	1900	2470	33.5	17.3	4.2
Simikot	1590	2820	35.5	16.5	1.6
Chinese strain					
Yunnan	1090	2760	38.0	16.4	0.3

Table 4-3. Mean values of rutin content and main characters in tartary buckwheat, cultivated in 1993

Cultivar or Strain	Rutin content (mg/100gDW)		Main characters		
	in seed	in leaf	Days to first flowering (days)	1000 seed weight (g)	seed weight /plant (g)
European cultivars or strains					
C- 32	1470	3310	38.5	21.5	4.4
C- 42	1790	3520	34.0	15.8	4.1
C-418	1790	4230	34.0	16.3	4.3
Dolina Krm	1710	3560	33.0	14.2	2.3
Sakhalin	1820	3560	31.0	13.9	3.1
Nepalese strains					
Tatopani	1780	3550	43.0	17.9	7.5
Kalopani	1740	3510	43.5	18.4	11.0
Tukche	1870	3430	43.5	15.4	6.4
Marpha	1630	3620	42.0	17.1	6.6
Thini	1740	3070	43.0	18.0	8.8
Kagbeni	1970	4050	35.5	20.1	5.4
Jarkot	1810	3970	35.5	20.0	6.7
Muktinath	1530	3030	38.5	13.0	0.8
Kimaling	1940	3260	37.5	18.5	8.5
Simikot	1490	3470	44.0	15.9	6.3
Chinese strain					
Yunnan	1130	3210	46.0	15.4	0.9

Table 4-4. Mean values of rutin content in tartary buckwheat, cultivated in 1992 and 1993

Cultivar or local strain	Rutin content	
	in seed (mg/100gDW)	in leaf (mg/100gDW)
European cultivars or strains		
C- 32	1310	2870
C- 42	1680	3220
C-418	1670	3390
Dolina Krm	1670	3340
Sakhalin	1730	3230
Nepalese strains		
Tatopani	1680	2770
Kalopani	1720	2850
Tukche	1830	2870
Marpha	1660	3190
Thini	1740	2700
Kagbeni	1950	3500
Jarkot	1860	3610
Muktinath	1470	2460
Kimaling	1920	2870
Simikot	1540	3140
Chinese strain		
Yunnan	1110	2980

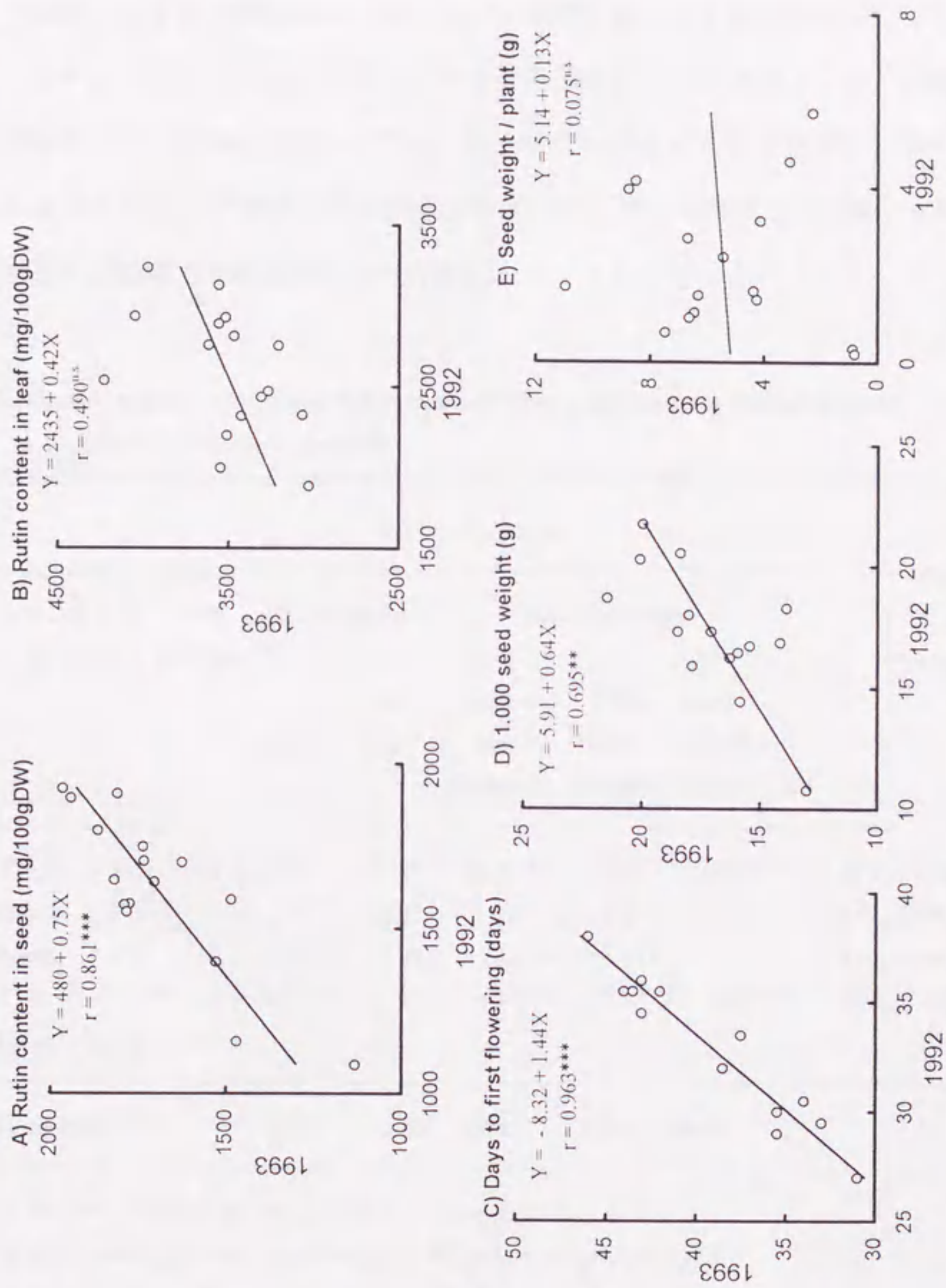


Fig. 4-1. Year to year correlation for rutin content and main characters in tartary buckwheat, 1992 and 1993.

0.86***, 0.49^{n.s.}であった。また、第1花開花まで日数、1,000粒重および稔実粒重の相関係数はそれぞれ 0.96***, 0.70** および 0.08^{n.s.}であり、種子ルチン含量および第1花開花まで日数で 0.1%水準の高い有意性が認められた。

ルチン含量および主要形質について分散分析をおこなったところ、品種・系統間差は Table 4-5 に示すように、種子ルチン含量で 0.1%水準で、葉ルチン含量で 5%水準で有意な系統間差が認められ、第1花開花まで日数、1,000粒重でも系統間で有意な差が認められた。

Table 4-5. Analysis of variance and estimation of heritability for rutin content and main characters in tartary buckwheat

Sources of variation	Degree of freedom	F - values					Formula of F-value
		Rutin content		Main characters			
		in seed	in leaf	Days to first flowering	1000 seed weight	Seed weight /plant	
Year (Y)	1	10.9	26.4*	662.3**	0.2	1183.8***	MS_Y / MS_B
Block (R)	2	1.4	4.8*	2.7	4.1*	0.1	MS_R / MS_E
Strain (V)	15	12.6***	2.9*	17.1***	5.5**	1.1	$MS_V / MS_{Y \times V}$
Y × V	15	2.2*	1.3	10.5***	2.2*	5.0***	$MS_{Y \times V} / MS_E$
Error (E)	30						
Heritability ¹⁾		0.76	0.10	0.41	0.60	0.03	

*, **, *** : Significant at 5, 1, and 0.1%, respectively.

$$E[MS_Y] = \sigma^2_E + 16\sigma^2_R + 32\sigma^2_Y, \quad E[MS_R] = \sigma^2_E + 16\sigma^2_R,$$

$$E[MS_V] = \sigma^2_E + 4\sigma^2_V + 2\sigma^2_{Y \times V}, \quad E[MS_{Y \times V}] = \sigma^2_E + 2\sigma^2_{Y \times V},$$

$$E[MS_E] = \sigma^2_E$$

$$1) E[h^2] = \sigma^2_V / (\sigma^2_R + \sigma^2_Y + \sigma^2_V + \sigma^2_{Y \times V} + \sigma^2_E)$$

分散分析の結果から遺伝率を推定したところ、種子と葉のルチン含量の遺伝率はそれぞれ 0.76 と 0.10 であり、種子の遺伝率が高い値を示した。また、第 1 花開花まで日数の遺伝率が 0.41 と比較的 low に推定された。その原因のひとつとして、材料および方法でも述べたように、第 1 花開花の観察方法が両年で異なり、1993 年の観察値が 1992 年より約 6 日遅かったことが考えられ (Fig. 4-1C)、年次の平均平方が過大に評価されたために、結果として遺伝率が low に推定されたと思われる。そこで、Table 4-6 のように単年度の結果から遺伝率を推定したところ、第 1 花開花まで日数はこれらの形質中で最も高い遺伝率を有する形質であることが推定された。従って、遺伝率の大きな形質から、第 1 花開花まで日数、種子ルチン含量、1,000 粒重および葉ルチン含量、稔実粒重の順で、種子ルチン含量は他の主要形質と比較しても比較的高い遺伝力を有する形質のひとつと考えられる。このことは、選抜による高含量系統の育種の可能性を示唆するものであり、ダットンソバにおける種子ルチン含量の育種に関して新知見が得られた。また、葉ルチン含量は他の主要形質と比べて遺伝率が低い形質と推定され、Naghski も生育ステージや栽培条件により葉のルチン含量が変動することを指摘している⁽⁵²⁾が、この点についてのさらに詳しい説明が今後の研究の課題になると思われる。

ルチン含量と主要形質の間で、有意な相関は両年度ともに認められなかった。また、種子ルチン含量と葉ルチン含量の間にも有意な相関は認められなかったことなどから、他形質を指標に用いたルチン含量の選抜はできないものと考えられた。また、供試系統の収集地の標高とルチン含量の関係については、有意な相関は認められなかった。ただし、標高と第 1 花開花まで日数の間に 1992 年、1993 年ともに 0.70* の有意な相関が認められた。

Table 4-6. Analysis of variance and heritability estimated based on the data of each year for rutin content and main characters in tartary buckwheat

Sources of variation	Degree of freedom	<i>F</i> - values					Formula of <i>F</i> -value
		Rutin content		Main characters			
		in seed	in leaf	Days to first flowering	1000 seed weight	Seed weight /plant	
(1992)							
Block (R)	1	3.9	11.0**	4.6*	3.0	0.3	MS_R / MS_E
Strain (V)	15	26.2***	3.4*	59.8***	4.9**	7.3***	MS_V / MS_E
Error (E)	15						

Heritability ¹⁾		0.92	0.42	0.96	0.63	0.77	
(1993)							
Block (R)	1	0.2	0.1	0.8	8.1*	0.0	MS_R / MS_E
Strain (V)	15	9.4***	1.9	127.5***	10.4***	5.0**	MS_V / MS_E
Error (E)	15						

Heritability ¹⁾		0.82	0.32	0.98	0.77	0.68	

*, **, *** : Significant at 5, 1, and 0.1%, respectively.

$$E[MS_R] = \sigma^2_E + 16 \sigma^2_R, \quad E[MS_V] = \sigma^2_E + 2 \sigma^2_V, \quad E[MS_E] = \sigma^2_E$$

$$1) E[h^2] = \sigma^2_V / (\sigma^2_R + \sigma^2_V + \sigma^2_E)$$

第3節 ダットンソバの種子ルチン含量に関する個体間変異

本節では、種子ルチン含量における個体間の遺伝変異について明らかにするため、ダットンソバの4品種・系統を供試して種子ルチン含量に関する個体選抜を行い、母本個体と後代系統の関係について解析した。

1. 材料および方法

C-418 (フランス産品種), Sakhalin (旧ソ連産系統), Kagbeni (ネパール産系統) および Jarkot (ネパール産系統) の各品種・系統を, 信州大学農学部附属農場において 1992年8月8日に条間 20 cm 株間 10 cm で播種した。10月28日に個体別に種子を収穫し, 種子ルチン含量を個体別に定量した。定量後の残りの種子を後代系統として 1993年7月21日に条間 20 cm, 株間 5 cm で播種し, 11月9日に系統毎に収穫して種子ルチン含量を定量した。両年の定量結果から母本個体のルチン含量と後代系統のルチン含量の関係について解析した。

2. 結果および考察

Fig. 4-2 は 1992年に測定した母本個体のルチン含量と 1993年に測定した後代系統の種子ルチン含量の関係を示したものである。この図から明らかなように, 種子ルチン含量に関する母本個体と後代系統の相関係数は $-0.25 \sim 0.28$ ときわめて低く, また, 回帰係数も $-0.06 \sim 0.13$ とほとんどゼロに近かった。すなわち, 母本の示す表現型変異は後代に遺伝されず個体選抜の効果は認められな

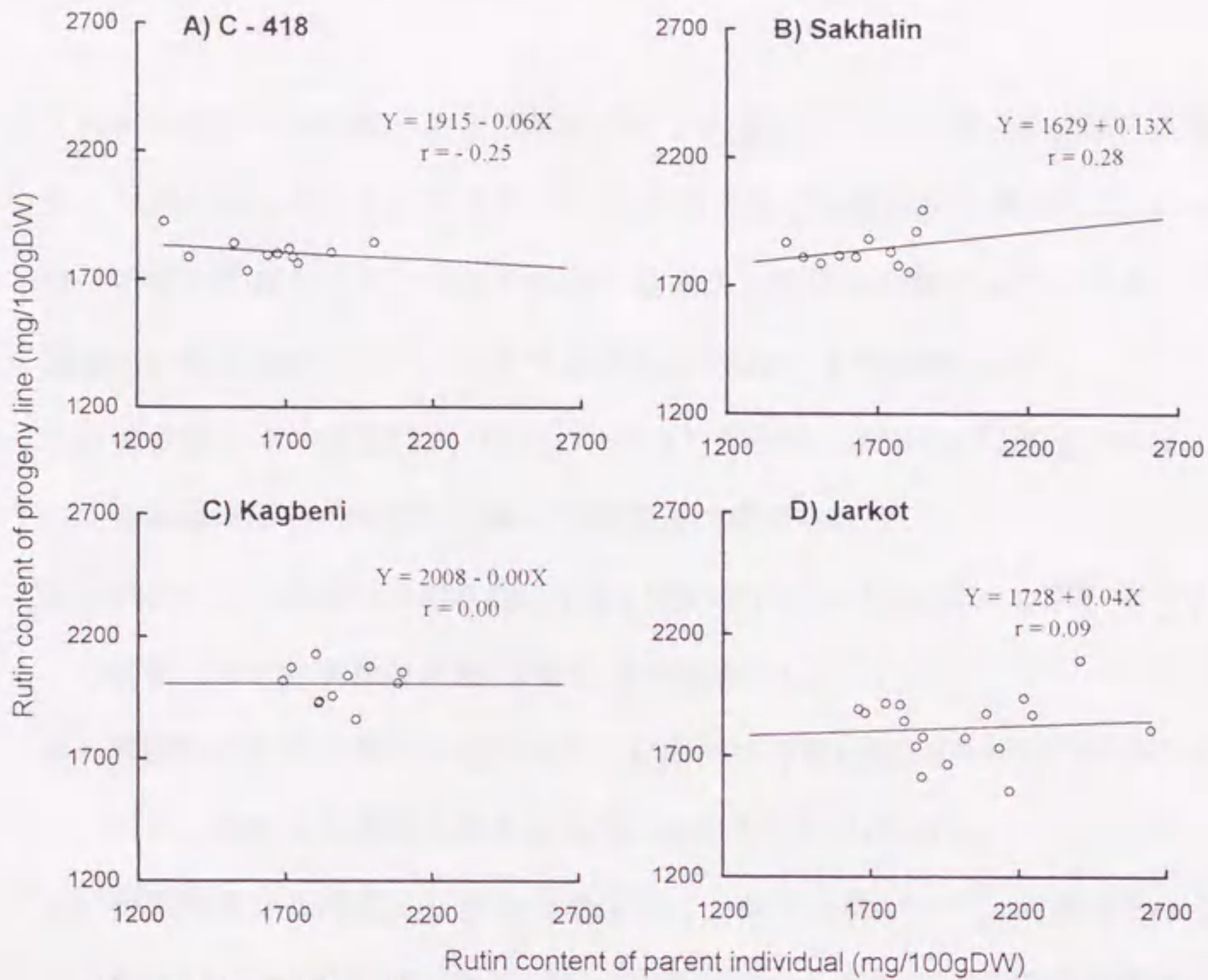


Fig. 4 - 2. Correlation of seed rutin content between parents and progeny lines in tartary buckwheat.

かった。このことは、供試した品種・系統が純系であることを示唆するものであり、ダットンソバの品種および在来系統の集団内に含まれる表現型変異のほとんどは環境変異によるものと考えられた。

第4節 摘要

(1) ダットンソバの種子および葉のルチン含量に関する品種・系統間の変異および遺伝率を明らかにするため、世界の主要な栽培国から導入した16品種・系統を供試し、2か年各2反復の乱塊法で栽培し、種子ルチン含量、播種後1か月目の葉のルチン含量および主要形質について調査した。

- 1) 種子のルチン含量は $1,110 \text{ mg} / 100 \text{ g DW}$ から $1,950 \text{ mg} / 100 \text{ g DW}$ までの変異を示し、有意な品種・系統間差が認められた。
- 2) 葉のルチン含量は $2,460 \text{ mg} / 100 \text{ g DW}$ から $3,610 \text{ mg} / 100 \text{ g DW}$ までの変異を示し、有意な品種・系統間差が認められた。
- 3) 年次間の相関係数は、種子ルチン含量では有意な相関 (0.86^{***}) がみられたが、葉ルチン含量では有意な相関は認められなかった。
- 4) 分散分析から推定した狭義の遺伝率は、種子と葉のルチン含量でそれぞれ 0.76 , 0.10 であり、種子ルチン含量に関する育種の可能性が示唆された。葉のルチン含量は他の主要形質と比べて遺伝率が低い形質であった。

(2) ダットンソバの種子ルチン含量に関して、系統内の遺伝変異を明らかにするため、4品種・系統を対象に種子ルチン含量について個体選抜を行い、親子間の関係について解析した。

その結果、親子間の相関係数、回帰係数の数値はきわめて低く、母本個体間の表現型変異はほとんどが環境変異であり、品種・系統内に含まれる遺伝変異は小さいものと推測された。

第5章 普通ソバとダツタンソバのルチン含量に関する種間差

第1節 緒言

ダツタンソバは普通ソバにくらべ高い収量性と収量安定性を有するといわれているが、第4章でも述べたように、子実中に苦み成分を含んでいることから、中国南西部からヒマラヤ諸国にかけての限られた地域でしか主に栽培されていない。これまでにこの2種を対象としたルチン含量の研究は、食品栄養学あるいは薬理学関係の研究者によって行われてきた。

葉のルチン含量に関する研究 (10, 32, 36, 49, 64, 67) は、1940年代から行われてきたが、普通ソバとダツタンソバの種間差の有無については報告毎に結果が異なり、いまだに一致した結論は得られていない。

種子のルチン含量に関しては、近年まで定量が行われなかったが、前述のように、ダツタンソバの種子には普通ソバにくらべ多くのルチンが含まれることが明らかとなっている。しかしこれまでの研究は、供試品種や系統も少なく、また、育種学的な観点からの検討もあまり行われていないのが現状である。

そこで本章では、主要な栽培国から導入した普通ソバ24品種・系統のルチン含量(第3章)とダツタンソバの16品種・系統のルチン含量(第4章)の数値を比較し、これらに一部の実験を加えて、種子ルチン含量および葉のルチン含量に関する種間差について論議を試みた。なお、葉のルチン含量に関しては、生育ステージによってルチン含量の変動が若干報告されている^(9,52)ことから、播種後30日目のルチン含量の測定に加えて、播種後60日目の葉のルチン含量についても定量を行い種間差を検討した。また、葉のルチン含量と主要

な栽培諸形質との関係についても検討したところ、生態型と葉ルチン含量との関連性が推測されたため、第3節でこの点について明らかにし、経時的なルチン含量の変動についても考察を行った。

第2節 普通ソバとダットンソバのルチン含量に関する種間差

1. 材料および方法

種子および葉のルチン含量について、第3章2節の普通ソバ24品種・系統（四倍体を除いた）を供試した実験の結果と、第4章2節で述べたダットンソバの16品種・系統の結果を比較した。葉のルチン含量については、1993年には播種後30日目の葉ルチンの定量に加えて、播種後60日目についても定量を行い、両種の差を検討した。いずれについても、各品種・系統は2反復栽培し、試験区ごとにルチン含量を定量した。また、第1花開花まで日数、1,000粒重、1株稔実粒重を調査し、ルチン含量との相関関係を検討した。

2. 結果および考察

両種の品種・系統について種子ルチン含量、1か月目の葉のルチン含量、第1花開花まで日数、1,000粒重および1株稔実粒重の2カ年の平均値をTable 5-1に示した。

種子ルチン含量では、ダットンソバが普通ソバより1992年では88倍、1993年では82倍のルチンを含んでいた。この結果は、従来の報告とくらべると種間差がはるかに大きかった。鈴木らはダットンソバの種子には普通ソバの8～

Table 5-1. Mean values for rutin content and main characters in common buckwheat and tartary buckwheat cultivars or strains in 1992, 1993

	Rutin content (mg/100gDW)			Main characters		
	in seed	in leaf		Days to first flowering	1000 seed weight (g)	seed weight /plant (g)
			30-day-old	60-day-old	(days)	
(1992)						
Common buckwheat ¹⁾	18.4	2280	-	23.9	24.5	3.92
Tartary buckwheat ²⁾	1620	2600	-	32.8	17.3	2.30
(1993)						
Common buckwheat ¹⁾	20.8	3060	2910	25.4	17.9	0.95
Tartary buckwheat ²⁾	1700	3520	4500	38.9	17.0	5.44

1) 24 cultivars or strains. 2) 16 cultivars or strains.

10 倍のルチンが含まれること⁽⁷⁴⁾を、また大澤らも 10 倍以上のルチンが含まれること⁽⁵⁶⁾を報告しているが、これらの報告のルチン定量法はいずれも比色法であった。これらに対して、今回の HPLC 定量法による実験結果では 80 倍程度の大きな種間差が認められた。ダットンソバは、子実の収量性および収量安定性が高いといわれ、かつ子実のルチン含量も高いことから、本実験によりダットンソバの種子ルチンの生産性の高さがより明確になった。

播種後 1 か月目の葉では、1992 年にはダットンソバが普通ソバの 1.14 倍、1993 年には 1.15 倍のルチンを含み両種の差は顕著ではなかった。しかし、播種後 2 か月目の葉では普通ソバの平均値が 2,910 mg / 100 g DW であったのに対

し、ダツタンソバの平均値は 4,500 mg / 100 g DW であり、ダツタンソバが約 1.55 倍のルチンを含んでいた (Table 5-1, Fig. 5-1) .

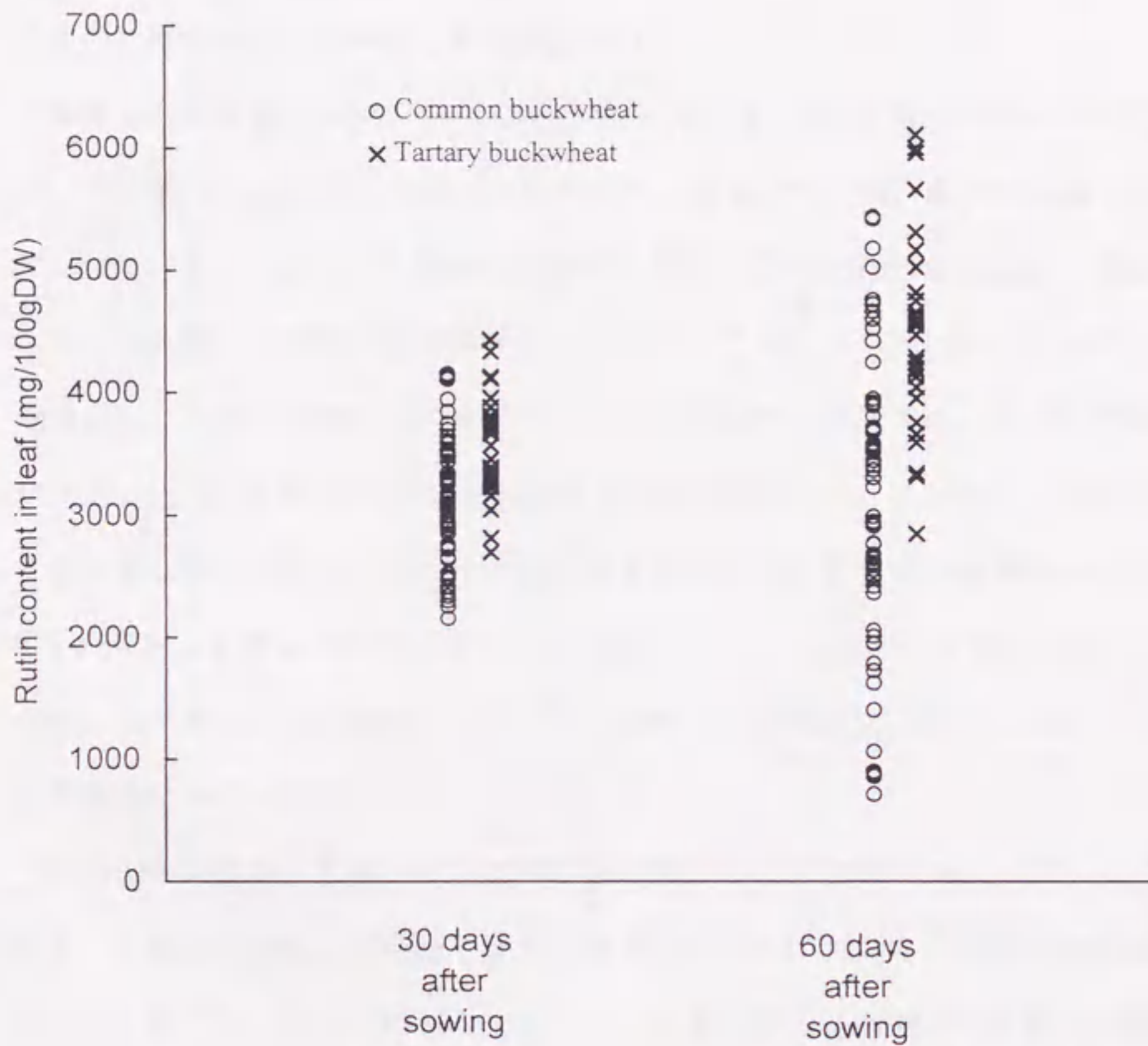


Fig.5 - 1. Changes of the leaf rutin content with growth stages of buckwheats in 1993 with 2 replications.

葉のルチン含量に関する普通ソバとダツタンソバの種間差については従来から意見が分かれ、種間差を認める報告 (10, 32, 52, 64) と、種間差を認めない報告 (36, 49, 67) が混在した。このような意見の相違は、葉のルチン含量は種内の品

種・系統間差が種間差に対して比較的大きいことに加えて、後の第3節で明らかにしたように、葉の採取期の差異が影響を与えているものと考えられる。本実験では、全般的にダツタンソバの葉の方が普通ソバより若干多くのルチンを含有していることを明らかにしたが、種間差は品種・系統間差を大幅に上まわるものではないことも事実である (Fig. 5-1)。

普通ソバおよびダツタンソバの各系統の30日目、60日目の葉のルチン含量を、それぞれ Table 5-2, Table 5-3 に示した。普通ソバでは、個々の品種・系統についてみると60日目で含量が増加する品種・系統と低下する品種・系統がみられ、品種・系統間の変動係数は30日目の15.4%から60日目の36.4%に増加した。また、Table 5-3のダツタンソバの葉ルチン含量では、多くの系統が30日目から60日目に約1,000 mg / 100 g DWの増加を示した。特に、葉ルチン含量の最も高い系統としては、中国産の Yunnan が60日目に乾物重あたりほぼ6%のルチンを含んでおり、ユーカリ (約8%)、アンズ (約1.8%) やタバコ (約0.2%) などの他の植物の含量⁽³⁾と比較しても高含量に属し、これらの系統は貴重なルチン資源の一つと考えられた。

葉のルチン含量と主要な栽培諸形質との関係について解析したところ、1,000粒重、1株稔実粒重、葉面積、葉の含水率のいずれにおいても特定の関係は認められなかった。また、30日目の葉ルチン含量と第1花開花まで日数では相関は認められなかったが、60日目では高い相関関係が認められ、相関係数は普通ソバで0.68***、ダツタンソバでは0.69***であった。Fig. 5-2のように、普通ソバ、ダツタンソバともに開花が遅い秋型の品種・系統ほど葉のルチン含量は高い傾向が認められた。

このことは、早生の系統は播種後60日目で既に老化により葉のルチン含量が低下する生育ステージにあり、晩生系統は播種後60日目でもなおルチン含

Table 5-2. Mean values and ratio for leaf rutin content of 30 and 60 days after sowing in common buckwheat in 1993

Cultivar or Strain	Leaf rutin content		Ratio ¹⁾
	30 days after sowing (mg/100gDW)	60 days after sowing (mg/100gDW)	
Japanese cultivars (Diploid)			
Botan-Soba	3230	1500	0.46
Kitawase-Soba	2540	890	0.35
Shinano-No.1	3660	2670	0.73
Hitachi-Akisoba	3200	3340	1.04
Kyushu-Akisoba	3590	3630	1.01
Japanese cultivars (Tetra ploid)			
Hokkei-No.1	2230	790	0.35
Shinshu-Ohsoba	4140	2850	0.69
Miyazaki-Ohtubu	3270	3650	1.12
Chinese strains			
Yunnan-1	3130	2630	0.84
Yunnan-2	2490	3500	1.41
Guizhou	2570	2660	1.04
Yulin	2360	2110	0.89
Taolin	2610	-	-
Nepalese strains			
Matathati	3240	4920	1.52
Tatopani	3600	4930	1.37
Khinger	4030	3550	0.88
Jarkot-1	3510	3300	0.94
Jarkot-2	3140	4200	1.34
Chhenga	3310	3860	1.17
Muktinath	3780	3310	0.88
European cultivars			
Bogatyř'	2910	1710	0.59
Adja Tlacina	2720	2010	0.74
Sokurovskaja	2450	2060	0.84
LA HARPE	2900	2640	0.91
BRUSVILY	2980	1780	0.60
SAINT CONGARD	2580	2100	0.81
Local variety	2900	3540	1.22
Mean value	3060	2910	0.95
Standard deviation	470	1060	
Coefficient of variation (%)	15.4	36.4	

1) Leaf rutin content of 60 days after sowing / Leaf rutin content of 30 days after sowing

Table 5-3. Mean values and ratio for leaf rutin content of 30 and 60 days after sowing in tartary buckwheat in 1993

Cultivar or Strain	Leaf rutin content		Ratio ¹⁾
	30 days after sowing (mg/100gDW)	60 days after sowing (mg/100gDW)	
European cultivars or strains			
C- 32	3310	4620	1.40
C- 42	3520	4220	1.20
C-418	4230	4310	1.02
Dolina Krm	3560	3470	0.97
Sakhalin	3560	3080	0.87
Nepalese strains			
Tatopani	3550	4670	1.32
Kalopani	3510	4360	1.24
Tukche	3430	5580	1.63
Marpha	3620	5640	1.56
Thini	3070	4430	1.44
Kagbeni	4050	4340	1.07
Jarkot	3970	4310	1.09
Muktinath	3030	4460	1.47
Kimaling	3260	4350	1.33
Simikot	3470	4290	1.24
Chinese strain			
Yunnan	3210	5890	1.83
Mean value	3520	4500	1.28
Standard deviation	330	720	
Coefficient of variation (%)	9.4	16.0	

1) Leaf rutin content of 60 days after sowing / Leaf rutin content of 30 days after sowing



Fig. 5 - 2. Relationships between leaf rutin content of 60-day-old and days to first flowering of buckwheats in 1993.
 *** : Significant at 0.1 %.

量の高い生育ステージを維持していることが原因であると推測される。この点について解明するため、次節でさらに実験を行い、生態型と経時的な葉ルチン含量の関係について解析することとした。

第3節 普通ソバとダットンソバの葉ルチン含量の経時的变化

前節で述べたように、播種後30日目から60日目にかけて、葉ルチン含量が増加する系統と低下する系統がみられ、このことは、開花の早晚すなわち生態

型との関連性が予測された。したがって本節では、普通ソバおよびダッタンソバの代表的な早生および晩生の系統を供試して、葉に含まれるルチンを経時的に定量し、生態型とルチン含量の関係について解析した。さらに、葉のルチン含量の経時的な変動を普通ソバとダッタンソバの種間で比較した。

1. 材料および方法

第3章、第4章で得られた第1花開花まで日数の値を参考に、普通ソバは夏型の早生品種である牡丹ソバと、秋型の晩生系統であるネパールの中部地方の Kagbeni を供試した。ダッタンソバは早生系統として旧ソ連産の Sakhalin を、晩生系統として中部ネパール産の Kalopani を供試した。両種の4品種・系統を、1994年7月25日に信州大学農学部附属農場において各200粒ずつ条間20cm、株間5cmで播種し、慣行法にて栽培した。播種後30日前後から約2週間おきに各10個体の全ての葉を採種し、乾燥後によく混合し、ルチン含量を定量した。また、個体あたりの乾物重量を調査し、ルチン含量と乾物重量から1個体あたりの葉に含まれるルチンの収量 (mg/plant) を算出した。

2. 結果および考察

普通ソバの播種後日数と葉ルチン含量の関係を Fig. 5-3 に示した。葉ルチン含量は開花後に最大値を示し、以後、徐々に低下する傾向がみられた。この傾向は、夏型品種、秋型系統ともに共通していた。夏型品種では開花が播種後23日目と早いために、40日前後にルチン含量が最も高かったが、秋型の Kagbeni では開花が42日目と遅いために、ルチン含量が最も高かったのは、牡丹ソバ

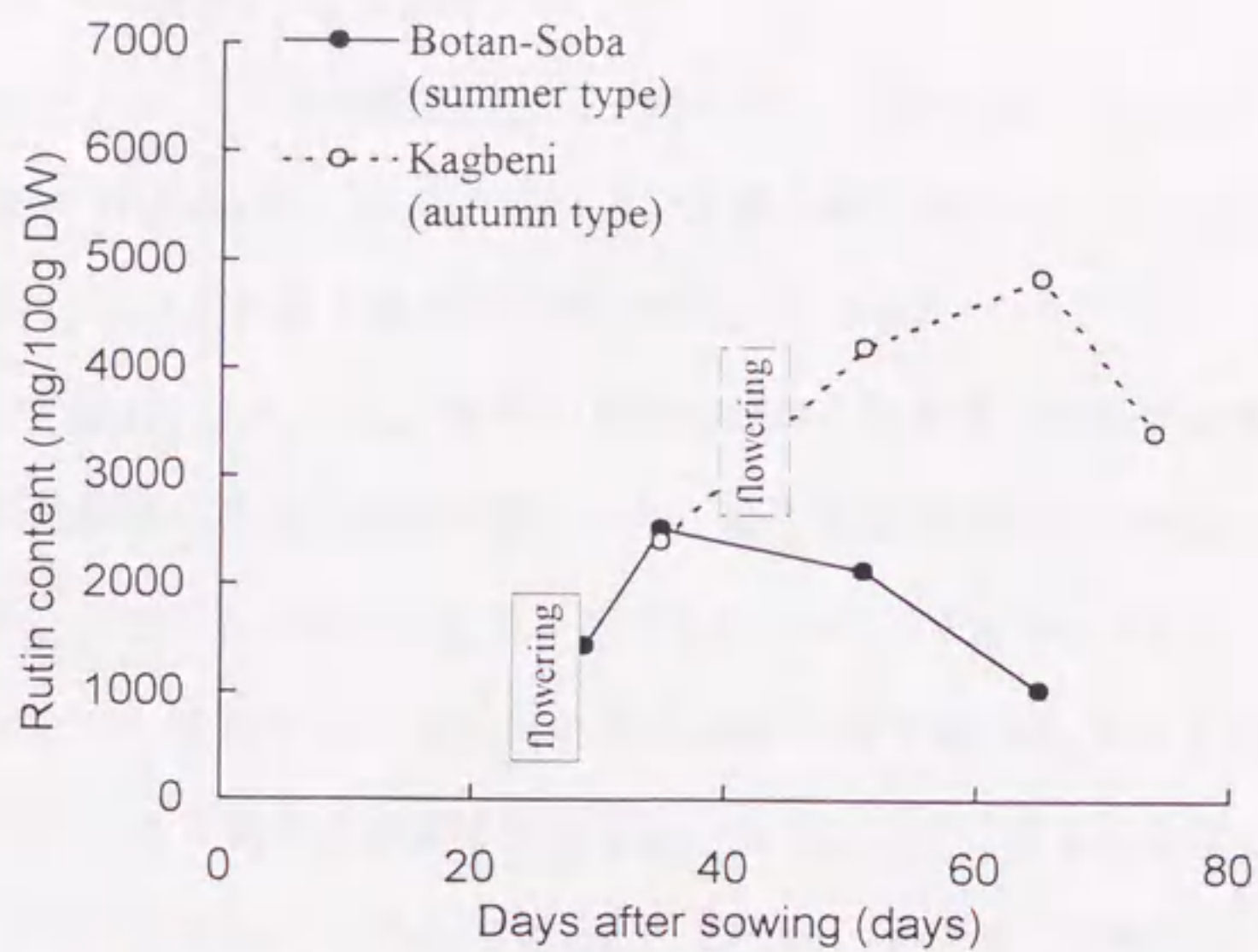


Fig. 5-3. Relationship between growing period and leaf rutin content in common buckwheat, Botan-Soba and Kagbeni.

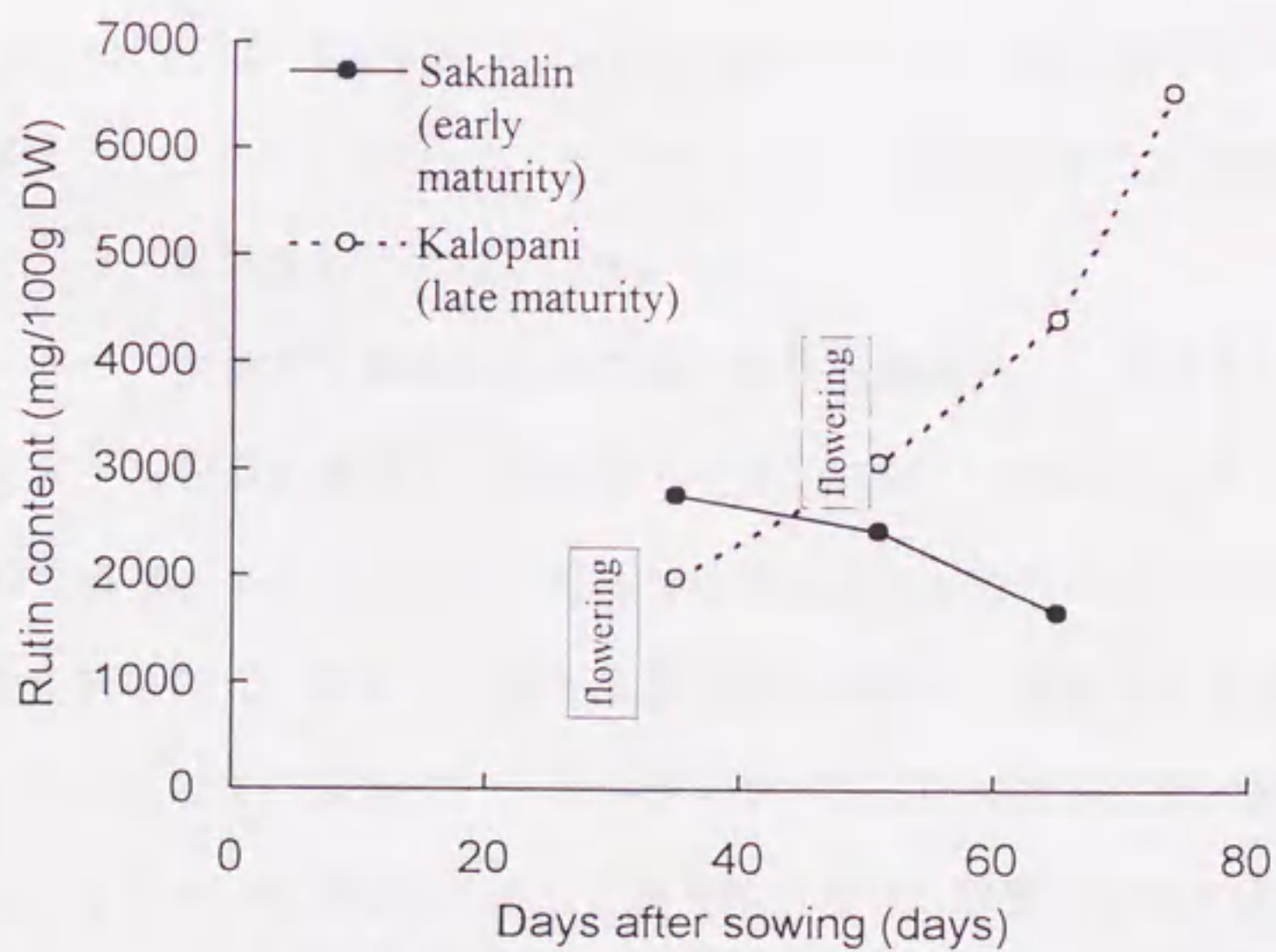


Fig. 5-4. Relationship between growing period and leaf rutin content in tartary buckwheat, Sakhalin and Kalopani.

より約 20 日程度遅い 60 日前後であった。

また、ダツタンソバの播種後日数と葉ルチン含量の関係を Fig. 5-4 に示した。早生系統の Sakhalin は、35 日目にルチン含量が最大値であったが、晩生系統の Kalopani は 73 日目が最大値でなお増加傾向が認められた。

両種のいずれにおいても、開花の早晚すなわち生態型と葉ルチン含量の経時的な変動の様相に密接な関係が認められ、晩生系統ほど遅い時期にルチン含量が最大値を示すことが明らかとなった。したがって、Fig. 5-3, 5-4 から明らかなように、30 日目では早生系統と晩生系統の間で差はあまり見られないが、60 日目前後には早晩の系統間で顕著な差が生ずることが明らかとなった。このことが、前節の Table 5-2, 5-3 で見られたように、系統間の変動係数が 30 日目に比べ 60 日目に大きな値を示す原因と考えられ、また、Fig. 5-2 のように 60 日目の葉ルチン含量と第 1 花開花まで日数の間に相関が認められた原因のひとつと考えられる。

種間差については、Kalopani の 73 日目以降のルチン含量が明らかでないため、明言はできないものの、普通ソバとダツタンソバの経時的变化の様相は比較的類似しており、顕著な差は認められなかった。

また、ルチン含量と 1 個体あたりの葉の乾物重量から、1 個体あたりの葉に含まれるルチン収量を算出し、経時的な変化を普通ソバでは Fig. 5-5 に、ダツタンソバでは Fig. 5-6 に示した。両図とも早生系統と晩生系統のルチン収量の差は日数を経るに従い拡大し、晩生系統は早生系統の 2 倍以上のルチン収量を示した。したがって、普通ソバ、ダツタンソバともに晩生系統を長期間栽培することによりルチン収量を高めることが可能となり、重要な知見が得られた。

したがって、前節の結果も総合すると、葉からルチンをより多く得るためには、種間差を重視するよりも、生態型を重視した品種・系統の選択、特に晩生

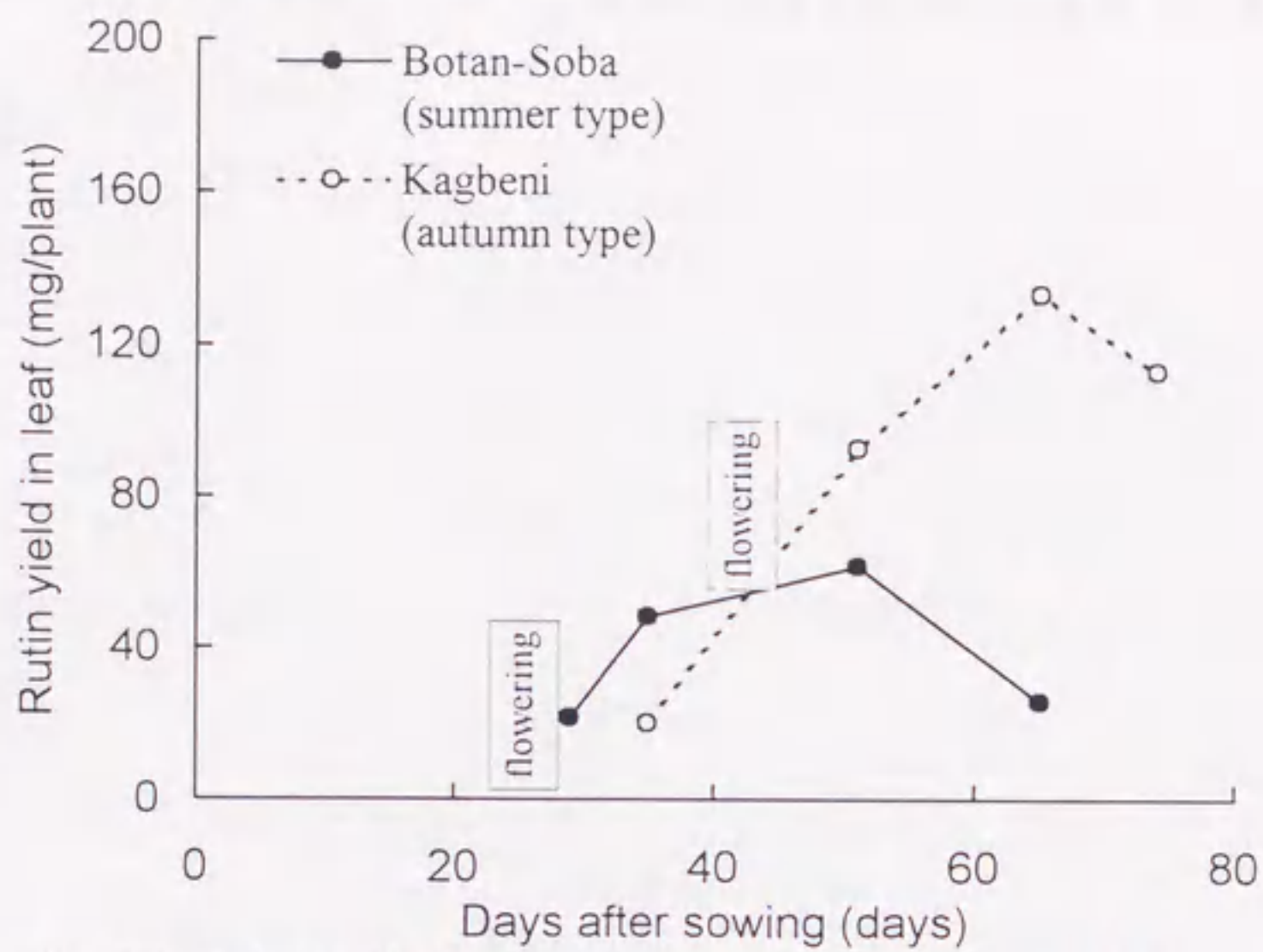


Fig. 5-5. Relationship between growing period and rutin yield in leaf per plant in common buckwheat, Botan-Soba and Kagbeni.

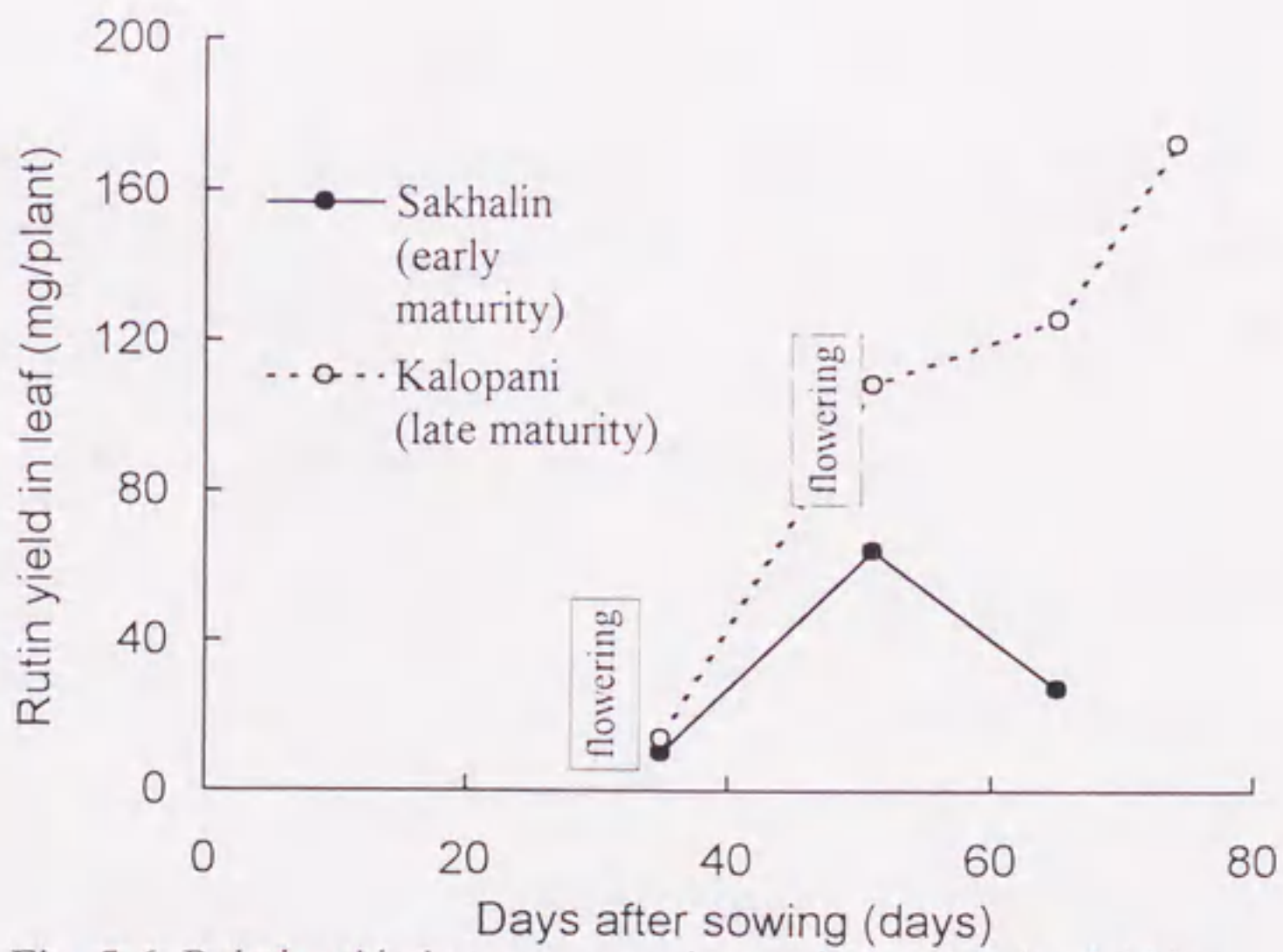


Fig. 5-6. Relationship between growing period and rutin yield in leaf per plant in tartary buckwheat, Sakhalin and Kalopani.

系統の利用と、その生態型に合った適切な採種期の選定が重要であると結論づけられる。

第4節 摘要

(1) 種子および葉のルチン含量に関する普通ソバとダツタンソバの種間差を明らかにするため、世界の主要な栽培国から導入した普通ソバ 24 品種・系統の結果と、ダツタンソバ 16 品種・系統で得られた結果を比較した。また、播種後 60 日目の葉のルチン含量についても種間差を比較検討した。

- 1) 種子では、ダツタンソバが普通ソバの約 80 倍のルチンを含んでいた。
- 2) 葉のルチン含量に関する種間差は、播種後 30 日目ではわずかであったが、播種後 60 日目では拡大した。
- 3) 葉のルチン含量の最大値は、播種後 60 日目の中国産ダツタンソバ Yunnan の約 6% (乾物重あたり) で、この系統は特にルチン資源として有用と評価された。
- 4) 葉のルチン含量は、全般的にダツタンソバが普通ソバより高かったが、種内の品種・系統間変異と比べると顕著な差とはいえなかった。
- 5) 60 日目の葉ルチン含量と第 1 花開花まで日数の間に正の相関がみられ、開花期 (生態型) と葉のルチン含量の関連性が予測された。

(2) 開花期 (生態型) と葉ルチン含量の関連性について明らかにするため、普通ソバとダツタンソバの代表的な早・晩生系統を供試し経時的に葉のルチン含量を定量した。

- 1) 両種ともに、開花後に葉のルチン含量が最大値となった。
- 2) 両種ともに、葉ルチン含量は早生系統にくらべ晩生系統ほど、遅い時期に最大値を示した。
- 3) 播種後 30 日目には早・晩生系統間で葉ルチン含量に大きな差はみられ

なかったが、60日目前後には早・晩生系統間で顕著な差が生じた。

- 4) このことは上記(1)5)において60日目の葉ルチン含量と第1花開花まで日数の間に正の相関が認められた原因と考えられた。
- 5) 個体あたりの葉のルチン収量に関して、普通ソバ、ダツタンソバともに晩生系統は日数を経ると早生系統の2倍以上の値を示した。
- 6) 葉のルチン含量については、種間差よりも、生態型を重視した品種・系統の選択、特に晩生系統の利用と、その生態型に合った適切な採種期の選定が重要であると結論づけられた。

第6章 総合考察

本研究は、ソバ属の栽培種である普通ソバ (*Fagopyrum esculentum* Moench) およびダツタンソバ (*F. tataricum* Gaertn.) のルチン含量に関する育種学的な資料、知見を得るために、品種・系統間さらには個体間のルチン含量の変異についてその実態を把握することを目的として実施したものである。本章では、これまでに述べた結果を総合し、ルチン含量に関する育種方法と育種の可能性について論議を試みたものである。

普通ソバの種子ルチン含量については、本研究の結果から有意な品種・系統間差すなわち遺伝的変異が認められたことは意義深いことである (Table 3-6)。さらに、種子ルチン含量は環境の影響を受けにくく、種子ルチン含量の遺伝率は1,000粒重より高いことを明らかにした (Table 3-7)。一般に1,000粒重は穀類の主要形質中で高い遺伝率を示す形質のひとつといわれている^(35, 79)。したがって、種子ルチン含量は選抜効果の高い形質と考えられ、高ルチン含量系統の育成が可能であると思われる。

普通ソバの種子ルチン含量に関する育種法としては、分離育種法、交雑育種法、遠縁交雑育種法、突然変異育種法などの適用が考えられる。

分離育種法については、系統内の個体間でルチン含量に遺伝変異が存在し (Fig. 3-4)、さらに、系統内で高・低両方向へ選抜をおこなったところ、わずか2回の個体選抜でも顕著な選抜効果が認められた (Fig. 3-5)。系統内の個体間でみられるルチン含量の表現型変異はその幅が20 mg / 100 g DW とそれほど大きくはないため (Fig. 3-4)、系統内での選抜によりルチン含量が大幅に上が

る可能性は少ないものと思われる。しかし、70代にわたりトウモロコシのタンパク質含量、油含量について高・低両方向に選抜を続けた実験の例では、70代目でも継続して着実な選抜効果が表れ、選抜により原集団の変異巾の約20～37倍の変異が生じたこと⁽¹²⁾から、ルチン含量に関しても原集団の変異を超えた系統が選抜される可能性も否定できない。今後の個体あるいは系統選抜にあたっては、普通ソバは異型花柱性に基づく他家受精作物であるために、他集団と隔離することにより効果的な選抜が可能となるであろう。また、本論文の第2章で少量の試料による定量法が開発されたので、含量に関する個体選抜が可能となり、テンサイの糖含量やトウモロコシの収量性などで成果を上げている残穂法の適用がルチン含量の場合においても有効であり検討されるべきであろう。さらに、個体選抜後代を集団として養成する集団育種法の併用も有効である。このことに関連して、農林水産省北海道農試が牡丹ソバから個体選抜と系統選抜を行い、早生で収量の高いキタワセソバの育成に成功している⁽²¹⁾。

系統間交雑に関しては、今回、主要な栽培国の27品種・系統を供試した結果、ネパール産の系統間で変異の幅が広く、特にルチン含量が30 mg / 100 g DW以上を示した Matathati, Tatopani, Khinger の系統は育種素材として有用と考えられたが (Table 3-4, Fig. 3-1), これらの系統は本実験の栽培では、開花期が遅く、1,000粒重も小さく、また、収量性も低いなどの面で日本の主要品種に比較し多くの不利な点を持っているため (Table 3-2, 3-3), 日本における実用品種を育種するための素材として用いる際には十分な検討が必要であろう。

種間交雑による高ルチン含量系統の育成について考えてみると、ダットンソバが普通ソバの約80倍のルチンを種子に含んでおり (Table 5-1), ダットンソバのもつ特性を普通ソバに導入するための手段として種間交雑は有効と考えられる。普通ソバとダットンソバの胚珠培養による種間雑種の作出の試みが、李

らにより行われており⁽⁴¹⁾、雑種後代系統の育成が期待されるところである。また、廣瀬らのソバ属内の交雑親和性についての交配実験によると、ダットンソバや野生種の宿根ソバ(*F. cymosum*)は、花粉管の伸長からみる限り普通ソバと比較的親和性の高いグループに属することが報告され⁽²⁰⁾、また、上述の宿根ソバはダットンソバと同様に種子に 800 mg /100g DW 程度の高濃度のルチンを含むといわれている⁽⁶⁴⁾が、氏原らは宿根ソバと普通ソバとの種間雑種を胚珠培養により獲得しており⁽⁸³⁾今後の研究の展開が期待される。しかしながら、種間交雑によって得られた後代の多くは一般的に稔性が低く、実用品種とするためには、既存の優れた品種との戻し交配や複二倍体にするなどの操作も併せて検討されなければならない。

人為突然変異の作出は、成分育種の変異拡大の手法として比較的実用的な方法と思われる。含有成分の生成に関与する遺伝子の多くは、比較的小数の主働遺伝子により支配されていることが多いために、突然変異の誘発は有効な方法の一つとされている⁽⁴⁷⁾。成分育種に関する突然変異利用の成果としては、古くは 1930 年頃に人為突然変異により無毒ルーピンが作られ、最近では、イネ^(33, 80)、ダイズ⁽⁷⁶⁾、エンドウ、コムギ、トウモロコシ、タマネギ⁽³⁴⁾などについて突然変異によって高タンパク質の系統が育成されている。普通ソバは他家受精であることを考慮しなければならないが、種子ルチン含量の育種においても、突然変異育種の適用を検討する価値があるものと思われる。

今後の課題としては、実際の育種と並行して、ルチン含量の遺伝様式などの基礎的な面についてもさらに研究する必要がある。また、普通ソバとダットンソバの種子ルチン含量に顕著な種間差が認められたため、種間差が生ずる原因について明らかにすることで、興味ある知見が得られると思われる。特に、ルチン含量とその分解物であるケルセチン含量との関連⁽⁸⁷⁾については、今後

両種の比較により明らかにされる必要がある。

一方、ダツタンソバについても、普通ソバと同様に、種子ルチン含量において有意な品種・系統間差が認められ (Table 4-5)、また、種子ルチン含量の遺伝率は普通ソバと同様に、1,000 粒重の遺伝率より高い値を示した (Table 4-5, 4-6)。

自殖性を営むダツタンソバは、系統内でルチン含量に関する遺伝的な変異がほとんど存在しないため (Table 4-2)、個体選抜の効果は少ないものと推測される。したがって、ダツタンソバの種子ルチン含量について普通ソバのような分離育種を適用することはできないが、在来系統がほぼ純系とみなされるため高ルチン含量系統の導入は容易であると考えられる。

また、品種・系統間変異が認められているので、系統間交雑は有効な手法と考えられ、ネパール産系統の Kagbeni と Kimaling の種子ルチン含量はそれぞれ 1,950 mg / 100 g DW, 1,920 mg / 100 g DW と高く、育種素材として優れているものと考えられる (Table 4-2, 4-3, 4-4)。また、種子ルチン含量に関して、狭義の遺伝率が高かったため (Table 4-5, 4,6)、雑種の比較的初期の世代での選抜が可能であることが推測された。

さらに、前述したように突然変異育種はダツタンソバの種子ルチン含量の改良においても有効な手法と考えられ、放射線や化学薬品などによる突然変異の誘発により変異を拡大することが期待される。

今後は、実際の育種とともに、交配実験などにより遺伝様式の解明が課題になるとと思われる。

葉のルチン含量に関しては、普通ソバおよびダツタンソバともに有意な品

種・系統間差が認められたが (Table 3-6, 4-5) , 遺伝率は両種とも 0.1 から 0.2 と低かった (Table 3-7, 4-5) . したがって, 葉のルチン含量は環境条件によって影響を受け易い形質と考えられ, 高含量系統の選抜には困難が伴うと思われる. また, いずれの種においても葉のルチン含量の年次間の相関は低い (Fig. 3-3B, 4-1B) , 反復数や試験年数を増やしさらに検討する必要があるが平均して高含量の品種・系統も存在したため (Table 5-2, 5-3) , これらの品種・系統は有用な素材と考えられる.

以上のように, 普通ソバとダツタンソバの種子ルチン含量に関しては, 高含量系統の効率的な育成が可能であると考えられたが, 葉のルチン含量については, 遺伝率が低く環境に影響され易いので, 高含量系統の選抜には困難が伴うものと思われる.

第7章 総括

近年、農作物の品質や成分の改良は、重要な育種目標のひとつとなっており、ソバについてもこの傾向は同様で、ソバに含まれる様々な成分について研究がなされてきた。その中でもソバに含まれるルチンは、研究者の関心を最も集めてきた成分のひとつである。ルチンは、毛細血管の脆弱性を矯正し脳溢血を予防する薬理作用を有することで知られており、Couch がソバの葉に高濃度のルチンが含まれていることを報告して⁽⁹⁾から、ソバ属(*Fagopyrum*)のルチン含量に関する研究が数多く行われてきた。しかし、いままでのルチンに関する研究は栽培方法などが主で、品種や系統間差などを扱った遺伝・育種学的な研究は、皆無に等しく不十分であった。

本研究はこのような観点から、ソバ属の栽培種である普通ソバとダットンソバのルチン含量に関する育種のための基礎的な資料、知見を得ることを目的とし、品種・系統間さらに個体間のルチン含量の変異について検討し、ソバ属栽培種のルチン含量に関する育種法について考察を試みた。得られた成果を要約すると以下の通りである。

1. ルチン含量の定量法の検討

(1) 高性能液体クロマトグラフィ(HPLC)によるルチン測定法を決定し、装置の測定精度を検討した。

ルチン濃度とピーク面積は十分に直線的であり、また、HPLC装置の測定精度は変動係数で0.97%とかなり高かった。

(2) 普通ソバおよびダツタンソバの種子および葉について、ルチン定量のための試料調製法を検討した。

試料の粉碎程度により、抽出されるルチンの量は大きな変動を示し、粉碎条件は定量における最も大きな誤差要因であった。

(3) 普通ソバおよびダツタンソバの種子および葉について、ルチン含量の定量のために最適な乾燥方法、粉碎方法、抽出方法が決定され、定量誤差が明らかにされた。

1) ルチン含量の定量誤差は、変動係数で約 5 % と高い精度を示した。

2) 開発された定量法により 2 g 程度の試料で精度の高い定量が可能となり、個体間変異に関する研究・育種において意義あることと考えられた。

2. 普通ソバにおけるルチン含量の品種・系統間ならびに個体間変異

(1) 普通ソバのルチン含量に関する品種・系統間差および遺伝率を明らかにするため、27 品種・系統を供試し、2 年各 2 反復の栽培を行い、種子と葉のルチン含量および主要形質について調査した。

1) 種子のルチン含量で有意な品種・系統間差が認められ、12.6 mg / 100g DW から 35.9 mg / 100 g DW までの変異を示した。

2) 葉のルチン含量で有意な品種・系統間差が認められ、1,876 mg / 100 g DW から 3,602 mg / 100 g DW までの変異を示した。

3) 種子ルチン含量は四倍体品種が二倍体品種に比べ有意に高かったが、葉ルチン含量では倍数体間で有意差は認められなかった。

4) 供試系統の収集地域間で高度に有意な差が認められ、種子についてはネパール産系統の変異の幅が広く、育種素材として有用であると考えられ

た。

- 5) 種子と葉のルチン含量についての年次間の相関係数は、それぞれ 0.73***、0.64***で比較的高い数値を示した。
 - 6) 広義の遺伝率は、種子と葉のルチン含量でそれぞれ 0.59、0.24 であり、種子ルチン含量に関する育種の可能性が示唆された。
- (2) 普通ソバの種子ルチン含量に関して、系統内の遺伝変異を明らかにするため、個体選抜を行い、親子間の関係について解析した。
- 1) 親子回帰による回帰係数は 0.2 から 0.3 であった。
 - 2) 系統内の個体間には種子ルチン含量に関する遺伝的な変異が存在しているものと推測された。
- (3) 普通ソバの品種について種子ルチンの高・低両方向への2回の個体選抜と1回の隔離採取を実施し、選抜の効果を確認した。
- 1) 選抜された高含量系統群と低含量系統群では、ルチン含量に明確な差異がみられ、選抜の効果が認められた。
 - 2) 普通ソバの種子ルチン含量に関して、系統内での個体・系統選抜は、高含量の系統を育成する上でかなり有効かつ実用的な手段と考えられた。
 - 3) 選抜された高ルチン含量系統の開花まで日数および収量性などの主要形質は原集団と比較して変化が認められなかった。

3. ダットンソバにおけるルチン含量の品種・系統間ならびに個体間変異

- (1) ダットンソバの種子および葉のルチン含量に関する品種・系統間の変異および遺伝率を明らかにするため、16 品種・系統を供試し、2 年各 2 反復で栽培し、種子と葉のルチン含量および主要形質について調査した。

- 1) 種子のルチン含量で有意な品種・系統間差が認められ, 1,110 mg / 100g DW から 1,950 mg / 100 g DW までの変異を示した.
 - 2) 葉のルチン含量で有意な品種・系統間差が認められ, 2,460 mg / 100 g DW から 3,610 mg / 100 g DW までの変異を示した.
 - 3) 種子ルチン含量では年次間で有意な相関 (0.86^{***}) がみられたが, 葉ルチン含量では年次間で有意な相関は認められなかった.
 - 4) 狭義の遺伝率は, 種子と葉のルチン含量でそれぞれ 0.76, 0.10 であり, 種子ルチン含量に関する育種の可能性が示唆されたが, 葉のルチン含量は遺伝率が低い形質であった.
- (2) ダットンソバの種子ルチン含量に関して, 系統内の遺伝的変異を明らかにするため, 種子ルチン含量について個体選抜を行い, 親子間の関係について解析した.

親子間の相関係数, 回帰係数の数値はほとんどゼロに近く, 系統内の遺伝変異は小さいものと推測された.

4. 普通ソバとダットンソバのルチン含量に関する種間差

- (1) 種子および葉のルチン含量に関する普通ソバとダットンソバの種間差を明らかにするため, 第2章, 第3章で得られた結果を総合的に比較検討した.
- 1) 種子のルチン含量はダットンソバが普通ソバの約 80 倍のルチンを含んでいた.
 - 2) 葉のルチン含量に関する種間差は, 播種後 30 日目ではわずかであったが, 播種後 60 日目では拡大した.
 - 3) 葉のルチン含量の最大値は, 中国産ダットンソバの約 6% (乾物重あた

り)であった。

- 4) 葉のルチン含量は、ダツタンソバが普通ソバより高かったが、種内の品種・系統間変異と比べると顕著な差ではなかった。
 - 5) 60日目の葉ルチン含量と第1花開花まで日数の間に正の相関がみられ、開花期(生態型)と葉のルチン含量間の関連が予測された。
- (2) 開花期(生態型)と葉ルチン含量の関連性について明らかにするため、普通ソバとダツタンソバの代表的な早・晩生系統を供試し経時的に葉のルチン含量を定量した。
- 1) 両種ともに、開花後に葉ルチン含量が最大値となり、早生系統にくらべ晩生系統ほど、葉ルチン含量は遅い時期に最大値を示した。
 - 2) 普通ソバ、ダツタンソバともに、播種後30日目には早・晩生系統間で葉ルチン含量に大きな差はみられないが、60日目前後には早・晩生系統間で顕著な差が生じた。
 - 3) 葉のルチン含量については、種間差よりも、生態型を重視した品種・系統の選択、特に晩生系統の利用と、その生態型に合った適切な採種期の選定が重要であると結論づけられた。

5. 総合考察

- (1) 普通ソバの種子ルチン含量に関する育種法について考察した。
- 1) 普通ソバの種子ルチン含量に関して、品種・系統間変異および系統内遺伝変異が認められ、かつ遺伝率が高い形質であることから、分離育種法、交雑育種法、遠縁交雑育種法、突然変異育種法などによってルチン高含量系統の育成が可能であることを明らかにした。

(2) ダットンソバの種子ルチン含量に関する育種法について考察した。

1) ダットンソバの種子ルチン含量に関して、品種・系統間変異が認められたが、系統内の遺伝変異は小さかったため、導入育種が比較的容易であると考えられた。

2) ダットンソバの種子ルチン含量に関して、品種・系統間変異が認められ、また、遺伝率が高い形質であることから、交雑育種法、突然変異育種法がルチン高含量系統の育成に有効であることを明らかにした。

(3) ソバ属栽培種における葉のルチン含量について考察した。

普通ソバ、ダットンソバともに葉のルチン含量は遺伝率が低い形質であったため、遺伝的改良は困難であり、栽培や採取条件の検討が当面の課題であると考えられた。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始懇篤な御指導と御鞭撻を賜った信州大学農学部教授氏原暉男博士、同助教授南 峰夫博士に心から感謝の意を表す。また、本論文の取りまとめにあたり、懇切な御教示を賜った静岡大学農学部教授中井弘和博士、岐阜大学農学部教授古田喜彦博士に感謝する。

信州大学農学部教授茅原 紘博士にはルチンの定量についての御指導を頂き、信州大学農学部附属農場農場長有馬 博博士には実験圃場の御手配等に多々便宜を賜り、また信州大学農学部教授俣野敏子博士には激励と御支援を頂いた。ここに深く謝意を表す。信州大学農学部附属図書館栗澤知司氏には、文献の収集にあたり惜しみない便宜を賜り感謝の意を表す。また植物育種学研究室専攻生であった星野かずみ氏、大澤 徹氏、佐藤圭子氏には研究の実施にあたり惜しみない御協力をいただき深く感謝する。また同学年で全般にわたり良き相談相手となってくれた岐阜大学大学院連合農学研究科植物生産利用学連合講座の廣瀬玉紀氏はじめ同生物資源化学連合講座川上 晃氏、同生物環境管理学連合講座吉田 実氏、信州大学農学部植物育種学研究室の専攻諸氏に感謝する。

なお、本研究は筆者が長野県宮田村タカノ株式会社に在職中に実施されたものであり、多大な御援助と激励を賜ったタカノ株式会社堀井朝運代表取締役、同明石安弘取締役、および同社員諸氏に心から感謝の意を表す。

引用文献

- 1) Adachi, T. (1986). Is it possible to overcome the low yield of buckwheat by means of biotechnology? Proc. 3rd Int. Symp. on buckheat. Pulawy, Poland, 108 ~ 116.
- 2) Amarowicz, R. and Fornal, L. (1987). Characteristics of buckwheat grain mineral components and dietary fiber. *Fagopyrum* 7, 3 ~ 6.
- 3) Arriaga, F. J. and Rumbero, A. (1989). Rutin from Spanish plant sources: A survey. *Fitoterapia* 60(2), 180 ~ 183.
- 4) Bajaj, K. L., Kaur, G. and Chadha, M. L. (1990). Varietal variations in some important chemical constituents of onion. *Trop. Sci.* 30, 391 ~ 395.
- 5) Brejcha, V. and Horak, P. (1958). Use of defoliant for drying buckwheat in the field, and a new method for the chemical determination of rutin. *Nature* 181, 505 ~ 506.
- 6) Chhina, B. S. and Phul, P. S. (1988). Stability for quality in sorghum. *Indian J. Genet.* 48(1), 81 ~ 83.
- 7) Choi, B. H., Son, Y. H., Park, K. Y. and Park, R. K. (1991). Off- season productivity and rutin content of buckwheat vegetable. Research reports of the rural development administration (SUWEON) 33, 74 ~ 79.
- 8) Coons, G. H., Owen, F. V. and Stewart, D. (1955). Improvement of the sugar beet in the United States. *Ad. in Agronomy* 7, 90 ~ 139.
- 9) Couch, J. F., Naghski, J. and Krewson, C. F. (1946). Buckwheat as a source of rutin. *Science* 103, 197 ~ 198.
- 10) Couch, J. F., Naghski, J., White, J. W., Taylor, J. W., Sando, W. J. and Street, O. E. (1949). Tartary buckwheat as a source of rutin. U. S. Dept. Agr., Bul. Agr. Ind. Chem., AIC-222, Eastern Regional Research Laboratory.

- 11) Eggum, B. O. (1980). The protein quality of buckwheat in comparison with other protein sources of plant or animal origin. Buckwheat, Simp. Ljubljana, Sept. 1-3, 115 ~ 120.
- 12) 藤巻 宏, 鶴飼保雄 (1985). 遺伝と育種 2 改造される植物, pp81 ~ 99. 培風館, 東京.
- 13) 古沢康雄, 原田知枝 (1957). そば種実中のルチンについて (第1報). 長野県立短大紀要 12, 26 ~ 32.
- 14) 古沢康雄, 原田知枝 (1958). そば種子中のルチンについて (第2報). 長野県立短大紀要 13, 13 ~ 19.
- 15) 古沢康雄, 原田知枝 (1960). そばの栄養価に関する研究 (第7報). 栄養と食糧 13, 153 ~ 156.
- 16) 古沢康雄, 原田知枝 (1961). そばの栄養価に関する研究 (第8報). 栄養と食糧 14, 340 ~ 342.
- 17) 後藤寛治 (1973). 成分育種と収量性. (日本育種学会) 育種学最近の進歩 第15集, pp.40 ~ 50. 養賢堂, 東京.
- 18) Griffith, J. Q., Couch, J. F. and Lindauer, M. A. (1944). Effect of rutin on increased capillary fragility in man. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 55, 228 ~ 229.
- 19) 東 正昭, 櫛淵欽也, 伊藤隆二 (1974). 高蛋白米品種の育種に関する基礎的研究 I. 玄米蛋白含有率の品種間差異および諸形質とくに収量との関係について. 育種学雑誌 24, 88 ~ 96.
- 20) Hirose, T., Ujihara, A., Kitabayashi, H. and Minami, M. (1994). Interspecific cross-compatibility in *Fagopyrum* according to pollen tube growth. Breeding Science 44, 307 ~ 314.
- 21) 本田 祐 (1992). 北海道におけるそば新品種育成の現状と課題. 農業技術 47(8), 342 ~ 346.
- 22) 本田 裕, 木村正義, 阿部信行 (1993). 異なるソバ品種より得られたソバ

粉における脂肪酸組成の変異. 育種学雑誌 43 (別2), 165.

- 23) 細川定治 (1989). 甜菜. 養賢堂, 東京.
- 24) Ikeda, S. and Yamaguchi, Y. (1993). Zinc contents in various samples and products of buckwheat. *Fagopyrum* 13, 11 ~ 14.
- 25) 今井統雄, 古谷 潔 (1952). ルチン原料としてのシャクチリソバ ールチン含有生薬の調製法一. 薬用植物と生薬 4-5, 58 ~ 66.
- 26) 井上柳梧, 山岸恵美子 (1957). そばの研究 (第3報). 長野県立短大紀要 12, 1 ~ 7.
- 27) 岩田多子, 三輪里見, 稲山貴代, 佐々木弘子, 添田貫四郎, 菅原龍幸 (1990). 高血圧自然発症ラットに及ぼす苦蕎麦の影響. 女子栄養大学紀要 21, 55 ~ 61.
- 28) Javornik, B. (1980). Buckwheat proteins. Buckwheat, Symp. Ljubljana, Sept, 1-3, 121 ~ 126.
- 29) Javornik, B. (1983). Nutritional quality and composition of buckwheat proteins. Proceedings of the 2nd International Symposium on Buckwheat in human diets. Miyazaki, 199 ~ 212.
- 30) Javornik, B. and Kreft, I. (1984). Characterization of buckwheat proteins. *Fagopyrum* 4, 30 ~ 38.
- 31) 海妻矩彦, 平 宏和, 平 春枝, 福井重郎 (1974). 大豆における蛋白質含量・含硫アミノ酸含量の品種間差異および遺伝力について. 育種学雑誌 24, 81 ~ 87.
- 32) Kalyanasundaram, N. K. and Dalal, K. C. (1981). A note on preliminary work on cultivation aspects of buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) in Gujarat. *Indian Drugs* 18(10), 372.
- 33) 片岡勝美 (1973). 米粒の化学的品質に関する研究 V. Ethylene-imine 処理による高蛋白米変異の選抜について. 育種学雑誌 23, 125 ~ 130.

- 34) Kataria, A.S. and Singh, N. Mutation studies in onion (*Allium cepa* L.) VI-Effect of mutagens on total soluble solid contents. Ind.J.Hort. 47(2), 216 ~ 219.
- 35) Kato, T. (1990). Heritability for grain size of rice (*Oryza sativa* L.) estimated from Parent-Offspring correlation and selection response. Japan.J.Breed. 40, 313 ~ 320.
- 36) 川谷豊彦, 藤田早苗之助, 大野忠郎, 片柳益次郎 (1953). ルチン原料蕎麦の栽培試験 (第1報). 薬学雑誌 73, 837 ~ 841.
- 37) Kitamura, K. and Kaizuma, N. (1981). Mutant strains with low level of 7S Globulin in soybean (*Glycine max* Merr.) seed. Japan.J.Breed. 31, 353 ~ 359.
- 38) 古明地通孝 (1990). 新資源作物アマランサス, ダツタンソバの研究展望. 農業技術 45, 247 ~ 251.
- 39) Krewson, C.F. and Naghski, J. (1953). Occurrence of rutin in plants. Amer. Jour. Pharm. 125, 190 ~ 200.
- 40) Kusano, T., Chiue, H., Ikeda, K., Arihara, M. and Ujihara, A. (1983). Nutritive components in autotetraploid buckwheat seed. Proc. 2nd Intl. Symp. Buckwheat Miyazaki Buckwheat Research, 213 ~ 220.
- 41) 李 文生, 氏原暉男, 南 峰夫, 廣瀬玉紀 (1994). ソバ属における種間雑種の育成と利用に関する研究 (4) 胚珠培養による普通ソバ, ダツタンソバ及び宿根ソバの種間雑種の作出. 育種学雑誌44 (別1), 183.
- 42) Luther, Z. (1992b). Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum* Moench). Fagopyrum 12, 36 ~ 42.
- 43) Luther, Z. and Tisler, V. (1992a). Tannin-carbohydrate complex in buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum* Moench). Fagopyrum 12, 21 ~ 26.
- 44) 間邊俊一郎, 松田道生 (1985). 止血薬. 診断と治療 73, 36 ~ 38.
- 45) Margna, U., Margna, E. and Paluteder, A. (1990). Localization and distribution of flavonoids in buckwheat seedling cotyledons. J. Plant Physiol. 136, 166 ~ 171.

- 46) Matsubara, Y., Kumamoto, H., Iizuka, Y., Murakami, T., Okamoto, K., Miyake, H. and Yokoi, K. (1985). Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in *Citrus unshiu* peelings. *Agric. Biol. Chem.* 49, 909 ~ 914.
- 47) 松尾孝嶺 (1987). 改訂増補育種学, 第10版 pp.352 ~ 354 養賢堂, 東京.
- 48) Mazza, G. (1988). Lipid content and fatty acid composition of buckwheat seed. *Cereal Chemistry* 65, 122 ~ 126.
- 49) McGregor, W. G. and McMillican, M. E. (1952). Rutin content of varieties of buckwheat. *Scientific Agriculture* 32(1), 48 ~ 51.
- 50) Mertz, E. T., Bates, L. S. and Nelson, O. E. (1964). Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Sci.* 145, 279 ~ 280.
- 51) Naghski, J., Fenske, C. S., Jr., Krewson, C. F. and Couch, J. F. (1949). Determination of rutin in plant materials. U. S. Dept. Agr., Bur. Agr. Ind. Chem., AIC-236, Eastern Regional Research Laboratory, (Aug. 1949).
- 52) Naghski, J., Krewson, C. F., Porter, W. L. and Couch, J. F. (1950). Factors affecting the rutin contents of dried buckwheat meals. *J. Am. Pharm. Assoc.* 39, 696 ~ 698.
- 53) 小原忠彦, 大日方洋, 松村信之, 松橋鉄治郎 (1987). 信州そばの品質向上に関する研究 (第1報) そば粒中のルチン分布とそば製品中のルチン含量. 長野県食品工業試研究報告 15, 106 ~ 114.
- 54) 小原忠彦, 大日方洋, 松村信之, 松橋鉄治郎 (1989). 高速液体クロマトグラフィーによるそばルチンの定量. 日本食品工業学会誌 36, 114 ~ 120.
- 55) Ohara, T., Ohinata, H., Muramatsu, N., Oike, T. and Matsushashi, T. (1989). Enzymatic degradation of rutin in processing of buckwheat noodle. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 36, 121 ~ 126.

- 56) 大澤 良, 堤 忠宏 (1993). そばにおけるルチン含量の品種間変異. 育種学雑誌 43 (別 1), 236.
- 57) Patel, G. A. and Kalyanasundaram, N. K. (1984). Harvesting and curing of buckwheat leaves for rutin extraction. *Indian Drugs* 22(1), 1 ~ 3.
- 58) Pecavar, A., Prosek, M., Marsel, J. and Javornik, B. (1990). Quantitative amino acid analysis of buckwheat by reverse phase liquid chromatography. *Fagopyrum* 10, 81 ~ 85.
- 59) Pomeranz, Y. and Robbins, G. S. (1972). Amino acid composition of the buckwheat proteins. *J. Agric. Food Chem.* 20, 270 ~ 274.
- 60) Pomeranz, Y. (1973). A review of proteins in barley and buckwheat. *Cereal Sci. Today* 18(9), 310 ~ 315.
- 61) Porter, W. L. (1947). Tentative spectrophotometric method for the determination of rutin in various preparation. U. S. Dept. Agr., Bur. Agr. Ind. Chem., AIC-159, Eastern Regional Research Laboratory, (June 1947).
- 62) Rahman, S. M., Takagi, Y. and Towata, S. (1994). Inheritance of high linolenic acid content in the soybean mutant line B739. *Breeding Science* 44, 267 ~ 270.
- 63) 佐藤博二, 坂村貞雄 (1975). 蕎麦(*Fagopyrum esculentum* Moench)未熟種子のフラボノイドについて. *日本農芸化学会誌* 49(1), 53 ~ 55.
- 64) Shevchuk, T. E. (1983). The content of rutin in the different sorts of the buckwheat. *Fagopyrum* 3, 12.
- 65) 志賀敏夫, 李 正日 (1983). ナタネの脂肪酸組成育種. (村上寛一監修) 作物育種の理論と方法, pp.132 ~ 136. 養賢堂, 東京
- 66) Singh, A. and Atal, C. K. (1977). Cultivation of buckwheat in the plains as a raw material for rutin. In: *Cultivation and utilization of medicinal and aromatic plants*, 1st ed. pp.135 ~ 137. India.
- 67) Singh, J. M., Srivastava, L. J. and Sharma, A. K. (1989). Genetic evaluation of some

- Fagopyrum* collections for rutin yield and other associated characters. *Herba Hungarica* 28(3), 33 ~ 37.
- 68) Snedecor, G.W. (1967). *Statistical methods*. 5th ed. pp291 ~ 393. Iowa State Univ. Press, Iowa, U.S.A.
- 69) Soral-Smietana, M. and Fornal, L. (1984). Characteristics of lipids in buckwheat grain and isolated starch and their changes after hydrothermal processing. *Die Nahrung* 28(5), 483 ~ 492.
- 70) Soral-Smietana, M., Fornal, L. and Fornal, J. (1984). Characteristics of buckwheat grain starch and the effect of hydrothermal processing upon its chemical composition, properties and structure. *Starch-Starke* 36(5), 153 ~ 158.
- 71) 曾田武富, 加藤潤子, 桐渕滋雄, 青木 宏 (1981). 食品加工的立場からみたそばタンパク質の性状. *日本食品工業学会誌* 28, 297 ~ 302.
- 72) Sud, R. G. and Badyal, J. (1989). Varietal and seasonal variations in chemical constituents of tea in Himahal Pradesh. *S.L.J. TeaSci.* 58(1), 73 ~ 78.
- 73) 鈴木建夫, 石川宣子, 目黒ひろし (1983). 食品中のアンジオテンシン I 変換酵素阻害能について. *日本農芸化学会誌* 57, 1143 ~ 1146.
- 74) 鈴木建夫, 桜田尚子, 目黒ひろし, 鈴木彦市, 坂上孝彦, 氏原暉男 (1987). そばのルチン含量と分布について. *New Food Industry* 29(6), 29 ~ 32.
- 75) Takagi, Y., Matsuo, T. and Kishikawa, H. (1986). Inheritance of oleic and linolenic acid in soybean seeds. *Japan.J.Breed.* 36, 163 ~ 176.
- 76) Takagi, Y., Hossain, A.B.M.M., Yanagita, T. and Kusaba, S. (1989). High linolenic acid mutant in soybean induced by X-ray irradiation. *Japan.J. Breed.* 39, 403 ~ 409.
- 77) Takahata, Y., Noda, T. and Nagata, T. (1992). Varietal diversity of free sugar composition in storage root of sweet potato. *Japan.J.Breed.* 42, 515 ~ 521.
- 78) Takahata, Y., Noda, T. and Nagata, T. (1993). HPLC determination of β -carotene

- content of sweet potato cultivars and its relationship with color values. *Japan. J. Breed.* 43, 421 ~ 427.
- 79) 武田和義, 齊藤健一 (1983). 粒重と腹白米歩合の遺伝率と遺伝相関. *育種学雑誌* 33, 468 ~ 480.
- 80) Tanaka, T. and Takagi, Y. (1970). Protein content of rice mutants. Improving plant protein by nuclear techniques. (IAEA), 55 ~ 62.
- 81) Tsuzuki, E. and Kuroda, H. (1989). Breeding of high protein quality rice. *Euphytica* 43, 47 ~ 51.
- 82) Turner, A., Jr. (1952). Determination of rutin in buckwheat leaf meal and other plant materials. *Anal. Chem.* 24, 1444 ~ 1445.
- 83) 氏原暉男, 中村由美夫, 岩崎博行, 堀内敦子 (1988). ソバ属における種間雑種の育成と利用に関する研究 (1) 四倍体普通種と野生種間の胚珠培養による雑种植物の獲得. *育種学雑誌* 38 (別1), 112 ~ 113.
- 84) 鶴飼保雄 (1974). 遺伝母数の推定. (松尾孝嶺監修) *育種ハンドブック*, pp.349 ~ 381. 養賢堂, 東京.
- 85) Villareal, C.P. and Juliano, B.O. (1989). Variability in contents of thiamine and riboflavin in brown rice, crude oil in brown rice and bran-polish, and silicon in hull IR rices. *Plant Foods for Human Nutrition* 39, 287 ~ 297.
- 86) Weiss, A. (1842). Ueber das rutin. *Pharm. Zentralblatt* 13, 903.
- 87) 安田俊隆, 正木和好, 柏木隆史 (1992). ダツタンそばに含まれるルチン分解酵素について. *日本食品工業学会誌* 39, 994 ~ 1000.
- 88) Yildizoglu-Ari, N., Alton, V.M., Altinkurt, O. and Ozturk, Y. (1991). Pharmacological effects of rutin. *Phytotherapy Research* 5(1), 19 ~ 23.

Studies on the breeding of rutin content in cultivated buckwheat species (*Fagopyrum* spp.)

Hiromi KITABAYASHI

Summary

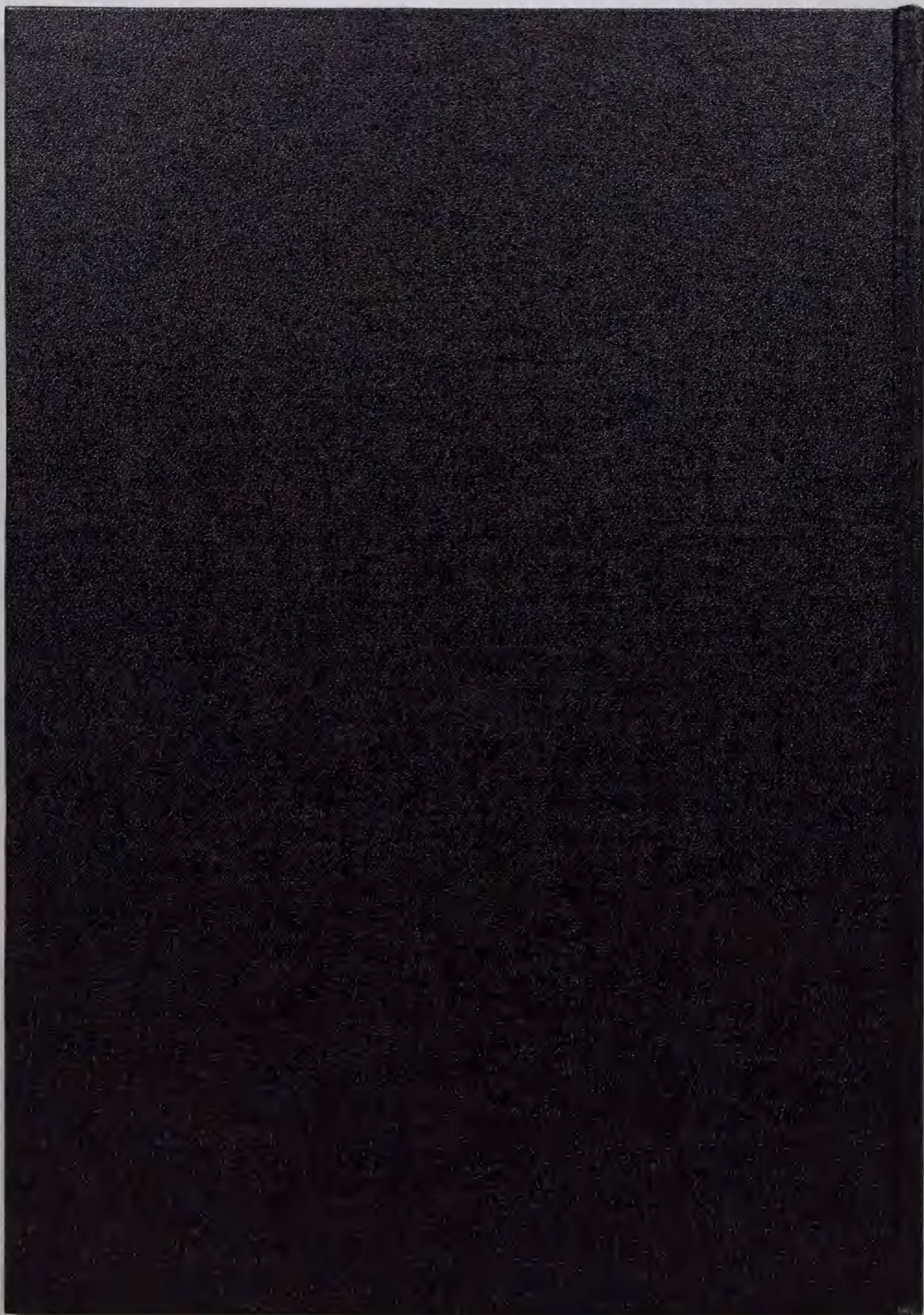
Rutin, a flavonol glycoside compound, was isolated for the first time from the garden rue plant. As main biological property, rutin alleviates the increase in capillary fragility associated with some hemorrhagic diseases or hypertension in man. Buckwheat is considered to be one of the useful sources of rutin in food. However, only a few attempts have been made to analyze the varietal differences in the rutin content of buckwheat, and studies on the estimation of the heritability of the rutin content in buckwheat seed have not been carried out so far. In this study, analyses of variance for the varietal difference on rutin content in two cultivated buckwheat species, common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and tartary buckwheat (*F. tataricum*), were performed. Also the genetic variation within a strain was investigated.

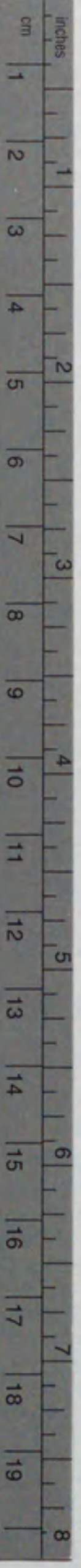
Rutin content was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). To determine the rutin content accurately, drying time for seed and leaf sample, sample weight, and grinding time as well as extraction time were examined. The procedure of sample preparation used in this study make it possible to determine the rutin content with C.V. less than 5%.

In common buckwheat, to analyze the varietal differences and heritability for the rutin content in seed and leaf, 27 cultivars and strains introduced from the major countries where buckwheat is cultivated were tested in 1992 and 1993 with two replications each year. As the results of analysis of variance, the varietal differences were significant for the rutin content in seed and leaf. The seed rutin content of the tetraploid cultivars of Japan was higher than that of the diploid ones. Highly significant differences in the rutin content of seed and leaf were recognized among areas. Especially

some of the Nepalese strains which contain a high concentration of rutin in seeds are considered to be useful breeding materials. The heritability values of the rutin content in seed and leaf were estimated at 0.59 and 0.25, respectively. These results indicate that the rutin content in seed is a trait with a relatively high heritability. These results suggest that the selection for rutin content in seed is relatively easy. Therefore, it is considered that it is possible to breed for rutin content in seed. To investigate the genetic variation within a strain, the individual selection for the seed rutin content was made and then the parent-offspring correlation analysis was carried out. The genetic variation of the seed rutin content exists within a common buckwheat cultivar. This indicates that individual selection for the seed rutin content is effective. As a fact, high and low rutin content lines were obtained after two cycle of individual selection for rutin content.

In tartary buckwheat, to make clear the difference among strains and heritability for the rutin content in seed and leaf, 16 strains introduced from main cultivating countries were grown in 1992 and 1993, and the seed and leaf rutin content were determined. By the analysis of variance, the significant differences among strains were recognized in the seed and leaf rutin content. The estimated heritability values of the seed rutin content and the leaf rutin content were 0.76 and 0.10, respectively. The heritability of the seed rutin content was as high as that of the days to first flowering. To clarify the effect of individual selection on the rutin content, the parent-offspring correlation analysis for seed rutin content was performed. Most of the phenotypic variation among the parent individuals was due to the environmental variation. This indicates that enlargement of genetic variation within a strain through crosses between strains or mutagen treatments is necessary for the breeding of the seed rutin content by individual selection in a tartary buckwheat strain. It is also clear that the seed rutin content of tartary buckwheat was contained about eighty times higher than that of common buckwheat.





Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 **M** 8 9 10 11 12 13 14 15 **B** 17 18 19

