農研機構
NARO 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

Studies on New Breeding Methodologies and Variety Developments of Two Buckwheat Species (Fagopyrum esculentum Moench and F. tataricum Gaertn.)

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 六笠, 裕治 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001368

北海道農研研報
195，57-114（2011）

ソバ属栽培２種（*Fagopyrum esculentum* Moench, *F. tataricum* Gaertn.）の新たな育種法と育種に関する研究

六笠裕治

目　　次

Ⅰ．緒論 ……57
　１．本研究の背景 ……57
　２．普通ソバ（*F. esculentum* Moench）育種に関する既往の知見 ……58
　３．ダッタンソバ（*F. tataricum* Gaertn.）育種に関する既往の知見 ……59
　４．本研究の目的 ……60
Ⅱ．近縁野生種（*F. homotropicum* Ohnishi）由来の自家和合性を利用した普通ソバの育種 ……61
　１．普通ソバと *F. homotropicum* の種間雑種からの子実非脱落性個体の選抜 ……61
　２．放任受粉条件における自家和合性ソバの他殖程度 ……66
　３．自家和合性ソバの温湯除雄法 ……69
　４．自家和合性ソバ近交系統の生産力 ……74
　５．長柱花の自家不和合性を利用した採種による一代雑種育種 ……75
　６．自家和合性を利用したグリーンフラワー型難脱粒性の遺伝解析 ……80
Ⅲ．交雑を伴うダッタンソバの育種 ……85
　１．温湯除雄を利用したダッタンソバの交配 ‥85
　２．易脱ぷ性ダッタンソバの遺伝解析 ……90
　３．易脱ぷ性ダッタンソバの抜き実の加工利用によるルチン分解酵素作用の回避 ……94
　４．片側ダイアレル交配による突然変異由来の半矮性ダッタンソバの遺伝解析 ……97
　５．濃赤色子葉形質の遺伝解析 ……100
Ⅳ．総合考察 ……105
　１．普通ソバの育種法と育種 ……105
　２．ダッタンソバの育種法と育種 ……106
Ⅴ．摘要 ……107
謝辞 ……108
引用文献 ……109
英文摘要 ……112

Ⅰ．緒　　論

１．本研究の背景

普通ソバ（*Fagopyrum esculentum* Moench）はタデ科ソバ属の栽培種であり，日本では広く栽培が行われている。2009年度の農林水産統計によれば，全国の作付面積の合計は４万5,400haであり，北海道，山形県，福島県，福井県，長野県の順に多い。生産物は主に麺に加工され，ざる蕎麦，かけ蕎麦などの料理は，多くの日本人に馴染み深い。世界的にもロシア，中国，アメリカ，カナダ，ミャンマーなどで広く栽培されており，それぞれの地域の気候条件に適応した生態型の分化が見られる。

普通ソバは白またはピンク色の目立つ花を着生し，虫媒によって受粉が行われる他殖性作物である。異型花型の胞子体型自家不和合性を有し，集団内に長柱花（花柱が長く，花糸が短い）個体と短柱花（花柱が短く，花糸が長い）個体が存在し，相互に受粉することで結実する。同じ花型間の受粉でも数少ない種子をつけることもあるが（Garber and Quisenberry，1927），基本的には不和合の組合せであるため，ほとんど結実はしない。異型花型自家不和合性は *S* 遺伝子座における２つの対立遺伝子 *S* と *s* によって支配され，短柱花は *Ss* のヘテロ型，長柱花は *ss* のホモ型であるとされる（Woo *et al.* 1999）。複雑な生殖様式のため精緻な育種体系の構築が難しく，品種改良は主に在来種からの集団選抜や母系選抜によって行われている。これらの方法は遺伝的な変異が大きい集団の改良には有効であり，これまで多くの品種が育成されてきた。しかしながら，日本における普通ソバの反収は過去100年間ほとんど横ばいで推移しており（農林水産省「作物統計」より），

平成23年５月６日　原稿受理
北海道農業研究センター　企画管理部

品種改良による多収化が達成できていないのが実状である。

ダッタンソバ(*F. tataricum* Gaertn.)もまたタデ科ソバ属の栽培種であり，別名を苦ソバと称し，子実には特徴的な苦みがある(川上ら，1995)。日本での作付けは少なく，地域特産作物として北海道や東北の一部などで栽培され，そば茶や麺に加工利用されている。世界的にも普通ソバほどは普及しておらず，主に中国，ネパール，ブータンの山岳などの冷涼な地域で栽培，消費されている。ダッタンソバは子実中にフラボノイド化合物のルチンを多量に蓄積することで知られ(Jiang *et al.* 2007)，食の健康志向とも相俟って，近年は機能性食材としても注目されている。そば粉は黄色みを呈し，この色を活かした加工食品の開発も試みられている(有田ら，1999；有田，1999)。

ダッタンソバは，黄緑色で小さく目立たない花を着生し，自動自家受粉によって結実する自殖性作物である。農作物としての需要が小さいため，これまで育種対象作物として積極的に品種改良を行う動機付けが弱く，遺伝育種的な研究はほとんど行われていない。実際の品種改良においても，在来種の導入や純系分離，人為突然変異など，交雑を介さない方法が主に採用されてきた(Wang and Campbell, 2004)。しかし近年は，機能性向上のための研究ニーズもあり，遺伝育種的な研究開発要望も高まっている。ダッタンソバは花器が小さく人工交配が難しいため，遺伝学や実際の育種の進展のためには，定常的な人工交雑を可能とする簡易な除雄法を開発することが一義的に重要であり，今後，積極的な人工交雑を通じて遺伝解析や品種改良を推進することが望まれている。

2．普通ソバ(*F. esculentum* Moench)育種に関する既往の知見

普通ソバは異型花型自家不和合性を有する虫媒の他殖性作物であるが，京都大学のグループにより自殖性の近縁野生種 *F. homotropicum* Ohnishi が中国国内で発見されたのを機に(Ohnishi, 1995)，種間交雑により自家和合性遺伝子を普通ソバに導入する研究が盛んに行われてきた(Campbell, 1995；Wang *et al.* 2005c)。この間，*F. homotropicum* の同型花性と普通ソバの異型花性は *S* 座の複対立遺伝子によって決定し，*F. homotropicum* の等長柱花(花柱が長く，花糸も長い同型花。以下，等長柱花と呼称する)と自家和合性は，$S > S^h > s$ という優劣関係のある S^h 対立遺伝子によって支配されることが明らにされた(Woo *et al.* 1999；Wang *et al.* 2005a)。また，自家和合性遺伝子の遺伝子マーカー（Aii *et al.* 1998；Aii *et al.* 1999）や花型間の交雑和合性(Matsui *et al.* 2003b；Matsui *et al.* 2004)など，重要な知見も次々に報告されており，育種的にも，虫媒を必要としない等長柱花型の自家和合性ソバ系統が，カナダや日本を中心に多数養成されている(Campbell，2004)。

野生種の *F. homotropicum* は，成熟期になると小果柄に離層が形成されるため，子実の著しい脱粒が起こる。一方，普通ソバでも小果柄の枯れ上がりによる脱粒は起こるが，離層が形成されないため，脱粒程度は野生種ほど著しくはない(大場ら，1998a)。*F. homotropicum* の子実脱落性には，普通ソバとも共通する２～３座の遺伝子座が関与し，うち少なくとも１座が劣性ホモの場合に子実非脱落性になると推測されており(Matsui *et al.* 2003a；Wang *et al.* 2005b)，普通ソバが子実非脱落性であるのは，*S* 座に連鎖する *sht1* 座を劣性ホモに有するためと考えられている。普通ソバを親として用いながら，自家和合性ソバの交雑育種を推進するためには，第一に，普通ソバと同様に *sht1* 座が劣性ホモの自家和合性個体を作出する必要があり，*F. homotropicum* の自家和合性遺伝子 S^h と離層形成型の脱粒性遺伝子 *Sht1* との連鎖関係を打破し，組換え個体を選抜する必要がある。

自家和合性ソバは，媒介昆虫なしでも自動自家受粉を行い結実するが，媒介昆虫の存在下での他殖程度は必ずしも明確ではない(Hayashi *et al.* 2004)。自家和合性系統を放任受粉条件で栽培しながら自殖後代を正確に育種選抜し，純系を養成するには，圃場での他殖程度を予め把握しておく必要がある。ソバの有限伸育型は，劣性一遺伝子(*d*)支配の形質であり(Funatsuki *et al.* 1996；Funatsuki *et al.* 2000 b)，無限伸育型(*D*)との交雑により次代の草姿が明瞭に変わるため，後代検定により交雑の有無が判定できる。これまでにも，有限伸育型を形態マーカーとして，４倍体品種を用いた隔離プロットの有効性が検証されており(Funatsuki *et al.* 2000a)，後代での無限伸育個体の出現頻度が，系統間の混交頻度として捉えられている。

自家和合性ソバの育成には，花型間の和合性（Matsui *et al.* 2003b）や除雄操作が不要なことから，通常は普通ソバの長柱花個体（自家不和合性）を雌親，等長柱花個体（自家和合性）を雄親とする交配を行う。しかし，有用遺伝子の集積のためには，自家和合性系統間の交配も必要となる。雌親に自家和合性ソバを用いる場合，除雄操作が不可欠となるが，ピンセットによる方法は手先の器用さのほか，多大な労力と時間を要するため，簡易な除雄法の開発が望まれる。イネの温湯除雄法の開発は（近藤，1939），実際の育種現場における除雄の省力化に大きく貢献し（赤藤，1958），ソルガム，スーダングラス，アワ，シコクビエ（Nandini and Fakrudin，1999）などの他作物でも，最適な処理温度や処理時間が報告されている（山田，1991）。しかし，ソバに関しては，これまで除雄操作の必要性がなかったこともあり，除雄法に関する研究事例は全くない。

普通ソバへの自家和合性の導入は，当初，結実の安定化と相加的遺伝効果の集積による遺伝的改良を通じて，多収化が実現するものと期待されたが，一方で，自殖の繰り返しによる近交弱勢の懸念もある（Marshall，1969；Marshall，1979）。他方，トウモロコシやテンサイなどでは，雑種強勢を積極的に利用する育種法の開発によって収量性が大きく改善しており，ソバでも雑種強勢育種法の開発には大きな効果があるものと考えられる。普通ソバではこれまで，核雄性不稔（GMS）に関する報告はあるものの（Wang and Campbell，2007a），一代雑種育種に利用できる細胞質雄性不稔（CMS）は確認されていない。一方，長柱花の自家不和合性を利用して一代雑種を採種する手法が考案されているが（船附ら，特許第2958457号），近交系統の養成に関する方法論が欠けており，育種に利用可能な技術の体系化には至っていない。

自家和合性の導入は，普通ソバの育種方法の幅を広げられるほか，自殖を通じて遺伝学的な解析が簡便に実施できるという利点をもたらす。グリーンフラワーは，これまでの報告で唯一の難脱粒性の遺伝資源であり，花弁に葉のような緑色の部分があり，枝梗が太くて導管数が多いという形態的特徴を有する（Alekseeva *et al.* 1988）。ウクライナでは，育種プログラムでも実際に利用された経緯があり（Alekseyeva，2002），品種育成に関する報告もある（Alexeeva *et al.* 2004）。遺伝性については，グリーンフラワーが劣性の形質であり，修飾遺伝子によって花の色調が変わると報告されているが（Alekseeva *et al.* 1988），農業上有用な難脱粒性との関係が明確ではなく，遺伝学的な情報をさらに蓄積する必要がある。

３．ダッタンソバ（*F. tataricum* Gaertn.）育種に関する既往の知見

近年は，食品分野における機能性研究が盛んなこともあり，血管強化作用や血圧降下作用（Matsubara *et al.* 1985）を有するフラボノイド化合物のルチンが注目され，含量の品種間差（Kitabayashi *et al.* 1995；森下ら，2006）やルチン分解酵素の特性（Yasuda and Nakagawa，1994；Suzuki *et al.* 2004）など，多くの研究が行われている。また，抗酸化活性（Fujita *et al.* 2003；Morishita *et al.* 2007）も着目されており，粉色との相関などが調べられている（Fujita *et al.* 2004）。ダッタンソバの機能性については，既にヒト介入試験も行われており，高脂血症，高血圧，肥満の改善が報告されている（Xiping and Xianqiong，1995）。

機能性研究の進展とは対照的に遺伝育種学の分野では，これまで世界的にもダッタンソバの研究事例は少なく，最近になって初めて交雑育種の取り組みが報告されている（Wang and Campbell，2007b）。しかしながら，交配の困難さは依然として指摘され，育種研究の障害にもなっている。温湯除雄法は，日本のイネ育種の現場で広く用いられている技術であり，花器の小さい作物では，交雑育種体系を構築する上で重要な意味を持っているが，ダッタンソバでの研究事例は全くない。

交雑育種においては，育種母材の選定が重要な要素の１つである。易脱ぷ性ダッタンソバは，ネパール，ブータン，中国南部の一部地域で栽培され，米の代替物として利用されている（Campbell，2003）。通常のダッタンソバは，そば殻が抜き実に固着して脱ぷが困難なのに対し，易脱ぷ性ダッタンソバは縦方向に３つの割れ目のある非固着性のそば殻を有し，容易に脱ぷができる。これまで，通常のダッタンソバとの交雑の成功例はあるが，未だ交雑の難しさも指摘され（Wang and Campbell，2007b），育種母材としての有用性も明らかではない。また，本易脱ぷ性系統を高緯度地域で栽培すると，栄養生長期間が長く植物体が過剰に生長する上，成熟期前に

霜に遭遇して極めて低収のため，早生化が最重要の課題である。

易脱ぷ性ダッタンソバは殻を容易に取り除くことができるため，そば粉や挽き割りのほかに，抜き実としての利用が可能である。ダッタンソバのそば粉は高いルチン分解酵素活性を有し，加水するとルチンが急速に分解するため(安田ら，1992)，ルチンを保持するためには事前の酵素失活処理が不可欠である(有田ら，1998)。子実の組織学的研究において，フラボノール - 3 - グルコシダーゼ(f3g，ルチン分解酵素)は主に種皮，ルチンは胚に局在することが示されており(SUZUKI *et al.* 2002；SUZUKI *et al.* 2007)，子実内では大部分の f3g はルチンと物理的に離れて存在すると考えられている。このため，抜き実をそのまま加水・加熱調理することで，ルチンの酵素分解が回避できる可能性がある。

一方，ダッタンソバの農業特性上の大きな欠点に，草丈が高く倒伏しやすいことがある。既存の育種素材には耐倒伏性に優れるものがなく，突然変異育種による半矮性変異の作出は，問題解決に向けた有望な手段の１つである。これまで，ダッタンソバに対するガンマ線や各種イオンビームの生物効果が明らかにされ(MORISHITA *et al.* 2001；MORISHITA *et al.* 2003)，照射後代の変異体から，半矮性で耐倒伏性の系統が数点育成されている。しかし，これらの半矮性系統の遺伝的な特性は明らかにされておらず，将来的な育種利用を考える上で，遺伝様式の情報は有用である。

ソバは穀実利用のほか，日本や韓国などでは芽出し野菜としての食習慣があり(KIM *et al.* 2001；KIM *et al.* 2004)，ダッタンソバの芽出し野菜の製品開発も行われている。これまでに，化学突然変異処理により，子葉が濃赤色を呈した芽出し野菜向けのダッタンソバ品種が育成され，アントシアニンの一種であるケラシアニンを多量に含有することが報告されている(KIM *et al.* 2006)。しかし，濃赤色子葉の形質の遺伝的特性は明らかにされておらず，交配親としての利用も行われていない。

４．本研究の目的

本研究では，普通ソバとダッタンソバのソバ属栽培２種を研究対象として，作目ごとに育種法の改良を加えながら，実際の品種改良を進展させることを最終目的としている。研究途上で確立できた個別技術や明らかにした遺伝様式の情報は，実際の育種事業において積極的に活用し，品種改良を効率的に推進している。

普通ソバでは，自殖性の近縁野生種 *F. homotropicum* から自家和合性を導入し，付与した自家和合性を利用しながら育種体系を再構築して，効果的に品種改良を行うことを目的とした。そのために，まず，普通ソバと *F. homotropicum* の種間雑種に，普通ソバを連続戻し交雑した集団から子実非脱落性個体を選抜し，育種に利用可能な自家和合性個体を養成することから始めた。第２に，自家和合性ソバの圃場条件における他殖程度を調査し，開放受粉条件における育種選抜の可能性について検討した。第３に，自家和合性ソバの除雄作業を省力化し，交配作業を効率化するため，温湯処理による除雄の可能性を検討した。第４に，後期世代の自家和合性ソバ系統について生産力を評価し，純系育種の可能性について議論した。第５には，自家和合性を用いて養成した近交系統を用いて，近交系統間の単交雑による一代雑種育種法の検討を行った。さらに，自家和合性個体の自殖を通じた遺伝学的解析の簡便さを利用して，難脱粒性の遺伝資源であるグリーンフラワーの遺伝様式について明らかにした。

ダッタンソバでは，これまでほとんど行われていない交雑育種の体系を構築し，様々な系統が有する有用形質を積極的に利用して，効果的に品種改良を行うことを目的とした。そのために，まず，温湯除雄法の利用可能性を検討し，それまで困難であった人工交配の技術的な確立を図った。以降，この人工交配法を利用して，様々な有用形質を有する系統の遺伝解析や育種的利用を行った。第１に，易脱ぷ性ダッタンソバに着目し，通常のダッタンソバとの交雑可能性や育種母材としての有用性を検証すると共に，非固着性のそば殻と早晩生との関係について議論した。また，穀実利用に関する検討を実施し，加水時における抜き実中のルチン分解や，加熱時におけるルチンの減耗について調査した。第２に，人為突然変異由来の半矮性系統に着目し，片側ダイアレル交配により各系統が有する半矮性遺伝子座の推定を実施した。第３には，人為突然変異由来の濃赤色子葉系統に着目し，形質の遺伝様式を調べると共に，ダッタンソバ幼植物体中の主要なアントシアニンであるケラシアニン含量について調査した。

Ⅱ．近縁野生種（*F. homotropicum* Ohnishi）由来の自家和合性を利用した普通ソバの育種

１．普通ソバと *F. homotropicum* の種間雑種からの子実非脱落性個体の選抜

自殖性の近縁野生種 *F. homotropicum* は，離層形成型の子実脱落性を示し，成熟期には著しい脱粒が起こる。一方，普通ソバでは，小果柄の枯れ上がりによる脱粒が起こるものの離層は形成されず（大場ら，1998a），強風害がなければ著しい脱粒は起こらない。*F. homotropicum* の子実脱落性には，普通ソバと共通する2 ～ 3座の遺伝子座が関与すると推定されており，普通ソバは，*S* 座に連鎖する遺伝子座 *sht1* に関して，子実非脱落性の劣性遺伝子をホモに有するため，子実非脱落性を示すと考えられている（MATSUI *et al.* 2003a；WANG *et al.* 2005b）。普通ソバとの交配を行いながら，本格的に自家和合性ソバの育種を進めるには，*F. homotropicum* の自家和合性遺伝子 S^h と脱粒性遺伝子 *Sht1* の連鎖に関し，組み換え体を作出する必要がある。本節では，*F. homotropicum* と普通ソバの種間雑種に，普通ソバを連続戻し交雑した集団から子実非脱落性個体を選抜し，さらに，後代検定によって *sht1* を劣性ホモに有すると推定される自家和合性個体を選び出した。なお，*F. homotropicum* の子実は有翅粒であり，加工利用の面で望ましくない粒形のため，無翅粒の選抜もあわせて行った。

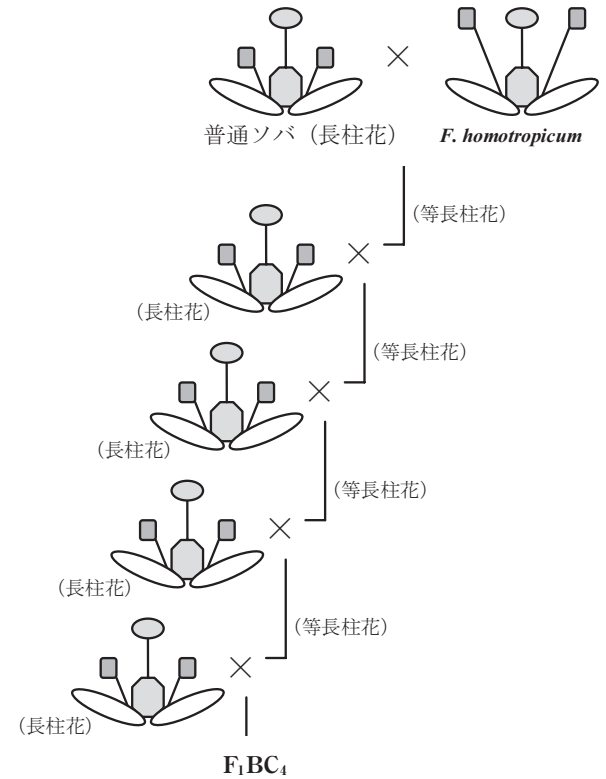
１）材料及び方法

（１）供試材料

子実脱落性の選抜には，*F. homotropicum* と普通ソバの種間雑種に，普通ソバを４回連続戻し交雑した集団（F_1BC_4）を用いた。１回親の *F. homotropicum* は京都大学より分譲されたもので，等長柱花を有して自殖性であり，子実脱落性を有し，子実の粒形は有翅粒であった。反復親の普通ソバには，北海道の長日条件に適した夏型品種である「キタワセソバ」と「キタユキ」を用い，両品種とも同時並行で連続戻し交雑を進めた。花型間の交雑和合性を考慮し，普通ソバの長柱花個体を雌親，*F. homotropicum* や種間雑種の等長柱花個体を雄親に用い，温室に設置した網枠内において，キンバエを花粉媒介昆虫として複数個体間で交配を行った（第Ⅱ－１図）。F_1BC_3 世代は雌親の個体別に採種を行い，「キタワセソバ」の連続戻し交雑個体には W1から W14，「キタユキ」の連続戻し交雑個体には Y1から Y15の番号を付して，F_1BC_4 世代における子実非脱落性，無翅粒の選抜ならびに検定交配に供試した（以降，F_1BC_4（キタワセソバ）および F_1BC_4（キタユキ）と表記する）。

（２）F_1BC_4（キタワセソバ）からの子実非脱落性・無翅粒・等長柱花個体の選抜と後代検定

F_1BC_4（キタワセソバ）は，F_1BC_3 世代での個体別採種数に応じて10または20粒ずつを供試した（第Ⅱ－１表）。2004年４月28日に，北海道農業研究センターのガラス温室において，園芸培土を充填したφ10.5cm の育苗ポットに１粒ずつ播種し，温室内で植物体を養成した。開花が始まった５月26日より随時花型の調査を行い，長柱花個体を全て淘汰し，等長柱花個体のみを調査対象とした。子実脱落性は，開花の進んだ６月14日より調査を開始し，植物体を揺すった際の，結実しなかった小花の脱落の有無によって判定し，１花でも脱落する場合には「子実脱落性」とした。子実脱落性の調査は，開花期間中に



第Ⅱ－１図　子実非脱落性の選抜に供試した F_1BC_4 の育成経過

反復親の品種として，「キタワセソバ」または「キタユキ」を用いた。

第Ⅱ－１表　F_1BC_4(キタワセソバ)の子実脱落性選抜供試数

個体番号	種子数(粒)		子実脱落性選抜供試数
W1	41	→	20
W2	36	→	20
W3	22	→	20
W4	27	→	20
W5	27	→	20
W6	39	→	20
W7	16	→	10
W8	34	→	20
W9	45	→	20
W10	48	→	20
W11	51	→	20
W12	51	→	20
W13	62	→	20
W14	16	→	10

何度も繰り返し行うと共に，結実した種子の粒形が有翅粒の場合には全て淘汰をした。最終的に子実非脱落性・無翅粒と判定された個体は，その個体を雄親とする検定交配を以下の通り実施し，後代の子実脱落性を判定した。

検定交配の雌親には,「キタワセソバ」「キタユキ」「Ballada」「Tempest」「端野」「牡丹そば」「白滝西」「Mancan」「Green Flower」「Sumchanka」の10品種・系統を用い，５月６日にφ10.5cmの育苗ポットに１粒ずつ播種して各10ポットを作成し，F_1BC_4(キタワセソバ)と並行して温室内で植物体を養成した。検定系統は，開花期に花型を調査して短柱花個体を全て淘汰し，長柱花個体のみを利用した。６月18日より，F_1BC_4(キタワセソバ)において子実非脱落性・無翅粒と判定した等長柱花個体を雄親，検定系統の長柱花個体を雌親として順次人工交配を実施し，成熟した結実種子を収穫した。

後代の子実脱落性検定には，各交配組合せより得られた種子を１粒ずつ供試した。７月25日に育苗ポットに播種して温室内で植物体を養成し，８月27日より花型の調査を行って等長柱花を選抜した後，上述の方法で，小花の脱落の有無により，子実脱落性を判定した。

(3)F_1BC_4(キタユキ)からの子実非脱落性・無翅粒・等長柱花個体の選抜と後代検定

F_1BC_4(キタユキ)についても，F_1BC_4(キタワセソバ)と同様の流れで子実非脱落性・無翅粒・等長柱花個体の選抜と後代検定を実施した。播種は2004年５月31日に行い(第Ⅱ－５表)，温室内で植物体を養成した後，６月29日より随時花型の調査を実施して等長柱花個体を選抜し，開花の進んだ７月６日よりの子実脱落性の検定を開始した。

後代検定のための検定系統として上記の10品種・系統を用い，６月14日に播種した。７月20日より，子実非脱落性・無翅粒と判定した等長柱花個体を雄親，検定系統の長柱花個体を雌親として人工交配を実施し，成熟した結実種子を収穫した。

後代の子実脱落性の検定には，各交配組合せより得られた種子を1粒ずつ供試し，８月17日に温室内のポットに播種して，順次，上述の方法で花型の調査と子実脱落性の判定を行った。

２) 結果および考察

F_1BC_4(キタワセソバ)では，播種した260粒のうち192粒が発芽し，発芽率は73.8％であった。一方，F_1BC_4(キタユキ)の発芽率は93％と比較的高かった。F_1BC_4(キタワセソバ)で発芽率が低かったのは，F_1BC_3を採種後すぐに播種し，休眠覚醒が不完全であったためと推察された。普通ソバの種子は一般に休眠がほとんどないが，世代促進の目的などで採種後すぐに播種を行う場合，発芽が抑制されることが報告されている(Wang and Campbell, 2000)。

生育個体には花型の分離が見られたが，花型と自家和合性には密接な関係があるため(Woo *et al.* 1999)，不要な長柱花個体(自家不和合性)は開花後すぐに全て淘汰し，自家和合性である等長柱花個体のみを調査対象とした。子実脱落性の検定では，子実ではなく，結実しなかった小花を判定対象としたが，小花の脱落の有無は，植物体に振動を与えることにより容易に判別できた。小花を判定に用いる利点には，開花期間中の比較的早期に判定が可能なため，判定個体そのものを親とする遺伝実験を行えることがある。なお,子実脱落性と判定した個体では,小花が極めて容易に脱落したことから，結実しなかった小花でも離層が形成されていると判断しており，離層形成型の脱落性の判定にはかなり有効であると考えられた。F_1BC_4(キタワセソバ)では，等長柱花149個体のうち121個体は子実脱落性と判定され，また，７個体は子実の形態が有翅粒であったため淘汰を行い，最終的に21個体を子実非脱落性・無翅粒個体として選抜し，後代検定に供試した(第Ⅱ

第Ⅱ－２表　F_1BC_4（キタワセソバ）の等長柱花個体における子実脱落性，有翅粒の調査

個体番号		子実脱落性	有翅粒	選抜
W1−	1	s		
	2	s		
	4	s		
	5	s		
	8	s		
	9	s		
	10	s		
	11	s		
	12		w	
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	16	s		
	18	s		
W2−	1	s		
	2	s		
	5			○
	6			○
	7			○
	9	s		
	10	s		
	15	s		
	16			○
W3−	1	s		
	2	s		
	3	s		
	5	s		
	7	s		
	8	s		
	9	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	16	s		
W4−	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	10	s		
	12	s		
	15	s		
	17	s		
	20	s		
W5−	1		w	
	2	s		
	3	s		
	4	s		
	6	s		
	7	s		
	9	s		
	10		w	
	11	s		
	17	s		
W6−	1			○
	2			○
	3			○
	4			○
	5		w	
	6		w	
	7			○
	8			○
	9			○
	10	s		
	11			○
	12			○
	13		w	
	14	s		
	15	s		
	16		w	
	18	s		
W7−	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	9	s		
W8−	1	s		
	8	s		
	15	s		
W9−	1			○
	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	7	s		
	8			○
	9	s		
	10	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15			○
	17			○
W10−	1	s		
	2			○
	3			○
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7			○
	9	s		
	12			○
	17	s		
W11−	5	s		
	7	s		
	8	s		
	9	s		
	10	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	17	s		
	18	s		
	20	s		
W12−	2	s		
	3	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	9	s		
	10	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	15	s		
	16	s		
	20	s		
W13−	1	s		
	2	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	10	s		
	11	s		
	12	s		
	20	s		
W14−	1	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	9	s		

等長柱花個体　149

↓

脱落性　121
有翅粒　7
非脱落性・無翅粒　21

↓

検定交配

W2-5
W2-6
W2-7
W2-16
W6-1
W6-2
W6-3
W6-4
W6-7
W6-8
W6-9
W6-11
W6-12
W9-1
W9-8
W9-15
W9-17
W10-2
W10-3
W10-7
W10-12

－２表）。

これまでに，*F. homotropicum* の子実脱落性には，普通ソバと共通する２～３座の遺伝子座の関与が推定され，うち少なくとも１座が劣性ホモの場合に，子実非脱落性になると報告されている（MATSUI *et al.* 2003a；WANG *et al.* 2005b）。普通ソバの場合，*S* 座に連鎖する子実脱落性の遺伝子座 *sht1* に関して，子実非脱落性の劣性遺伝子を共通に有すると考えられており（MATSUI *et al.* 2003a），普通ソバと交配を繰り返しながら自家和合性ソバの改良を行うためには，いかなる普通ソバと交配をしても子実脱落性の後代が生じないよう，まず，*sht1* 座に関して劣性遺伝子をホモに有する個体を選抜する必要がある。そこで，子実非脱落性・無翅粒と判定した選抜個体について，子実非脱落性に関する遺伝子座を確認するため，多くの普通ソバ個体との検定交配を行い，後代の子実脱落性を調べた。検定交配では，いくつかの組合せで種子が得られなかったものの，概ね判定に必要な種子数が確保できたと考え（第Ⅱ－３表），まず，各組合せ１粒ずつを供試して後代の子実脱落性を調査した。後代からは等長柱花個体と長柱花個体が分離したが，個体番号 W9-1，W6-3，W10-2，

第Ⅱ－3表　検定交配の組合せと採種粒数

(1) 試験ロットNo. 1

検定系統	個体番号（雄親）							
（雌親）	W9-1	W6-2	W6-3	W6-4	W2-6	W6-9	W10-2	W10-12
キタワセソバ	4	4	2	4	4	2	1	2
キタユキ	2	2	2	3	3	2	2	2
Ballada	3	2	2	4	2	2	2	3
Tempest	2	5	0	1	2	2	1	2
端野	1	2	2	2	2	3	2	3
牡丹そば	1	2	2	2	5	3	3	3
白滝西	2	3	2	1	1	1	0	2
Mancan	2	2	3	3	3	4	2	2
Green Flower	3	0	1	1	2	0	0	0
Sumchanka	3	3	4	2	3	3	2	3

(2) 試験ロットNo. 2

検定系統	個体番号（雄親）						
（雌親）	W6-11	W9-8	W10-3	W6-7	W6-8	W2-7	W9-15
キタワセソバ	4	2	2	2	3	2	2
キタユキ	3	2	2	6	3	2	1
Ballada	3	2	2	2	2	1	2
Tempest	3	1	0	1	2	0	2
端野	2	3	1	2	2	0	4
牡丹そば	2	3	2	3	3	1	1
白滝西	3	4	2	3	4	3	3
Mancan	3	3	2	4	4	2	2
Green Flower	3	0	0	1	2	1	0
Sumchanka	3	2	3	2	2	2	3

(3) 試験ロットNo. 3

検定系統	個体番号（雄親）					
（雌親）	W6-1	W2-16	W2-5	W6-12	W10-7	W9-17
キタワセソバ	1	2	1	3	1	1
キタユキ	2	0	1	2	2	1
Ballada	4	3	0	2	3	2
Tempest	2	4	1	2	2	4
端野	4	2	2	2	3	3
牡丹そば	3	2	1	1	0	1
白滝西	1	0	2	0	2	1
Mancan	3	2	1	3	3	4
Green Flower	1	0	1	1	2	0
Sumchanka	0	0	0	0	0	0

第Ⅱ－4表　検定交配後代の花型と子実脱落性

(1) 試験ロットNo. 1

検定系統	個体番号（雄親）							
（雌親）	W9-1	W6-2	W6-3	W6-4	W2-6	W6-9	W10-2	W10-12
キタワセソバ	p	h s	h s	p	h s	h s	h s	p
キタユキ	h **N**	p	h **N**	h s	×	h s	p	p
Ballada	p	p	p	h s	p	h s	h s	p
Tempest	p	p	−	p	p	p	h s	h s
端野	h s	h s	p	×	p	p	h s	p
牡丹そば	p	h s	p	h s	h s	p	h s	h s
白滝西	h s	h s	p	h s	p	p	−	p
Mancan	h s	×	p	p	p	h s	p	×
Green Flower	×	−	p	×	p	−	−	−
Sumchanka	h **N**	h s	p	p	h s	p	h **N**	p
判定	否	否	否	否	否	否	否	否

(2) 試験ロットNo. 2

検定系統	個体番号（雄親）						
（雌親）	W6-11	W9-8	W10-3	W6-7	W6-8	W2-7	W9-15
キタワセソバ	p	h s	p	h **N**	p	p	p
キタユキ	p	p	h s	h s	h s	h s	h s
Ballada	h s	×	h s	p	p	h s	h s
Tempest	p	h s	−	h s	h s	−	h s
端野	p	p	p	h s	h s	−	p
牡丹そば	p	h s	p	h **N**	h **N**	p	p
白滝西	h s	p	h s	p	h s	p	p
Mancan	p	p	p	h s	h s	p	p
Green Flower	h s	−	−	p	h s	p	−
Sumchanka	p	×	p	p	h s	p	h s
判定	否	否	否	否	否	否	否

(3) 試験ロットNo. 3

検定系統	個体番号（雄親）					
（雌親）	W6-1	W2-16	W2-5	W6-12	W10-7	W9-17
キタワセソバ	h s	h s	p	p	p	×
キタユキ	p	−	h s	h s	p	p
Ballada	p	h s	−	h s	h s	h s
Tempest	p	h s	h s	×	h s	p
端野	h s	p	h s	p	h s	h s
牡丹そば	h s	h s	p	p	−	p
白滝西	p	−	h s	−	×	p
Mancan	p	h s	×	×	h s	p
Green Flower	p	−	×	h s	p	−
Sumchanka	−	−	−	−	−	−
判定	否	否	否	否	否	否

h ：等長柱花，　p ：長柱花，　×：発芽せず，
− ：調査なし，　s ：子実脱落性，　**N**：子実非脱落性

W6-7，W6-8の後代からのみ子実非脱落性の等長柱花個体が出現した(第Ⅱ－4表)。しかしながら，全ての後代の等長柱花個体が子実非脱落性であるものはなく，供試した21個体の子実非脱落性には，*sht1*座以外の遺伝子座が関与していると推定され，F_1BC_4(キタワセソバ)からは育種に有用な自家和合性で子実非脱落性の個体は選抜できなかった。

一方，F_1BC_4(キタユキ)では，等長柱花213個体の子実脱落性の検定を実施したが，非脱落性と判定できたのは個体番号 Y12-20の１個体のみであった(第Ⅱ－6表)。検定交配では，「Green Flower」との組合せで種子が得られなかったが，残りの組合せでは概ね判定に必要な種子数が得られたと判断し(第Ⅱ－7表)，後代検定を実施した。まず，各組合せ１粒ずつを播種して，後代の子実脱落性を調査したが，出現した等長柱花4個体の全てを子実非脱落性と判定できた(第Ⅱ－8表)。その後，残った種子

第Ⅱ－5表　F_1BC_4(キタユキ)の子実脱落性選抜供試数

個体番号	種子数（粒）		子実脱落性選抜供試数
Y1	107	→	20
Y2	26	→	10
Y3	30	→	10
Y4	53	→	20
Y5	29	→	20
Y6	32	→	20
Y7	38	→	20
Y8	32	→	20
Y9	53	→	20
Y10	63	→	20
Y11	31	→	20
Y12	154	→	20
Y13	69	→	20
Y14	25	→	10
Y15	67	→	20

第Ⅱ－６表　F_1BC_4（キタユキ）の等長柱花個体における子実脱落性，有翅粒の調査

個体番号		子実脱落性	有翅粒	選抜
Y1−	1	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	9	s		
	10	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	17	s		
	18	s		
	20	s		
Y2−	1	s		
	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	9	s		
	10	s		
Y3−	1	s		
	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	9	s		
Y4−	1	s		
	2	s		
	3	s		
	5	s		
	6	s		
	9	s		
	10	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	16	s		
	19	s		
	20	s		
Y5−	1	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	9	s		
	10	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	16	s		
	17	s		
	18	s		
	19	s		

個体番号		子実脱落性	有翅粒	選抜
Y6−	1	s		
	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	9	s		
	10	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	16	s		
	17	s		
	19	s		
	20	s		
Y7−	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	12	s		
	13	s		
	15	s		
	16	s		
	18	s		
	20	s		
Y8−	1	s		
	3	s		
	4	s		
	7	s		
	8	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	16	s		
	17	s		
	19	s		
Y9−	1	s		
	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	10	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	16	s		
	17	s		
	18	s		
	19	s		
	20	s		

個体番号		子実脱落性	有翅粒	選抜
Y10−	1	s		
	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	9	s		
	10	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	17	s		
	18	s		
	19	s		
Y11−	1	s		
	2	s		
	3	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	9	s		
	10	s		
	13	s		
	16	s		
	17	s		
	18	s		
	19	s		
	20	s		
Y12−	1	s		
	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	9	s		
	10	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	16	s		
	17	s		
	18	s		
	19	s		
	20			○
Y13−	1	s		
	2	s		
	3	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	7	s		
	8	s		
	9	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	16	s		
	19	s		
	20	s		

個体番号		子実脱落性	有翅粒	選抜
Y14−	2	s		
	3	s		
	4	s		
	8	s		
	9	s		
	10	s		
Y15−	2	s		
	4	s		
	5	s		
	6	s		
	8	s		
	9	s		
	10	s		
	11	s		
	12	s		
	13	s		
	14	s		
	15	s		
	17	s		
	20	s		

等長柱花個体　213

↓

脱落性　212
有翅粒　0
非脱落性・無翅粒　**1**

↓

検定交配
Y12-20

第Ⅱ－７表　検定交配の組合せと採種粒数

検定系統（雌親）	個体番号（雄親） Y12-20
キタワセソバ	8
キタユキ	5
Ballada	5
Tempest	2
端野	6
牡丹そば	4
白滝西	4
Mancan	1
Green Flower	0
Sumchanka	6

第Ⅱ－８表　検定交配後代の花型と子実脱落性

検定系統（雌親）	個体番号（雄親） Y12-20
キタワセソバ	p
キタユキ	p
Ballada	h **N**
Tempest	p
端野	h **N**
牡丹そば	p
白滝西	h **N**
Mancan	x
Green Flower	－
Sumchanka	h **N**
判定	合

h ：等長柱花，　p ：長柱花，
×：発芽せず，　－ ：調査なし，
s ：子実脱落性，　**N** ：子実非脱落性

の全てを播種して子実脱落性検定の追試を行ったが，再度，後代の等長柱花個体の全てを子実非脱落性と判定でき(データ省略)，F_1BC_4(キタユキ)の個体番号 Y12-20を，自家和合性ソバの改良に利用できる *sht1* 座を劣性ホモに有する子実非脱落性の個体として選抜した。*sht1* 座と *S* 座との組み換え価は，これまでに5.46±1.18％と推定されており(MATSUI *et al.* 2003a)，個体番号 Y12-20は，これらの組み替えにより生じた自家和合性・子実非脱落性個体と考えている。これ以降，個体番号 Y12-20とその自殖後代を育種的に利用し，これまでに多数の普通ソバ系統･個体との間で交配を実施しているが，野生種 *F. homotropicum* のような著しい子実脱落性を示す後代は生じておらず，子実脱落性の問題は解決できた。

２．放任受粉条件における自家和合性ソバの他殖程度

F. homotropicum に由来する自家和合性遺伝子(S^h)を有する自家和合性ソバは，媒介昆虫が飛来しない条件でも自動自家受粉を行い結実するが，逆に，訪花昆虫が存在する条件での他殖の有無は明らかではない。放任受粉条件における他殖程度の把握は，自家和合性ソバの系統育種を圃場で実施する際，自殖後代を正確に育種選抜し，純系を養成するために不可欠である。本節では，劣性形質である有限伸育型を形態マーカーとして，放任受粉条件における自家和合性ソバの他殖程度の把握を試みた。

１） 材料及び方法

(１)供試材料

種子親には，育成途中にある有限伸育型・自家和合性ソバ系統の「04X10-3-1g」を用いた。「04X10-3-1g」は，F_1BC_4(キタユキ)の集団から子実非脱落性個体として選抜した個体番号 Y12-20と，ロシアの有限伸育型品種「Sumchanka」との交配 F_2 世代において，有限伸育型の等長柱花個体を媒介昆虫のいない温室内で選抜し，F_3 世代で系統としたものである。F_3 世代では，等長柱花個体と長柱花個体の分離が見られたため，試験では長柱花個体をすべて淘汰し，等長柱花個体(*S* 座の推定遺伝子型は S^hS^h または S^hs)のみを用いた。

花粉源には，無限伸育型・自家和合性ソバ系統の「04X01-1-1g」ならびに無限伸育型・開放受粉品種の「キタワセソバ」を用いた。「04X01-1-1g」は，F_1BC_4(キタユキ)の個体番号 Y12-20と「キタワセソバ」との交配 F_2 世代において，無限伸育型の等長柱花個体を媒介昆虫のいない温室内で選抜し，F_3 世代で系統としたものである。F_3 世代では，等長

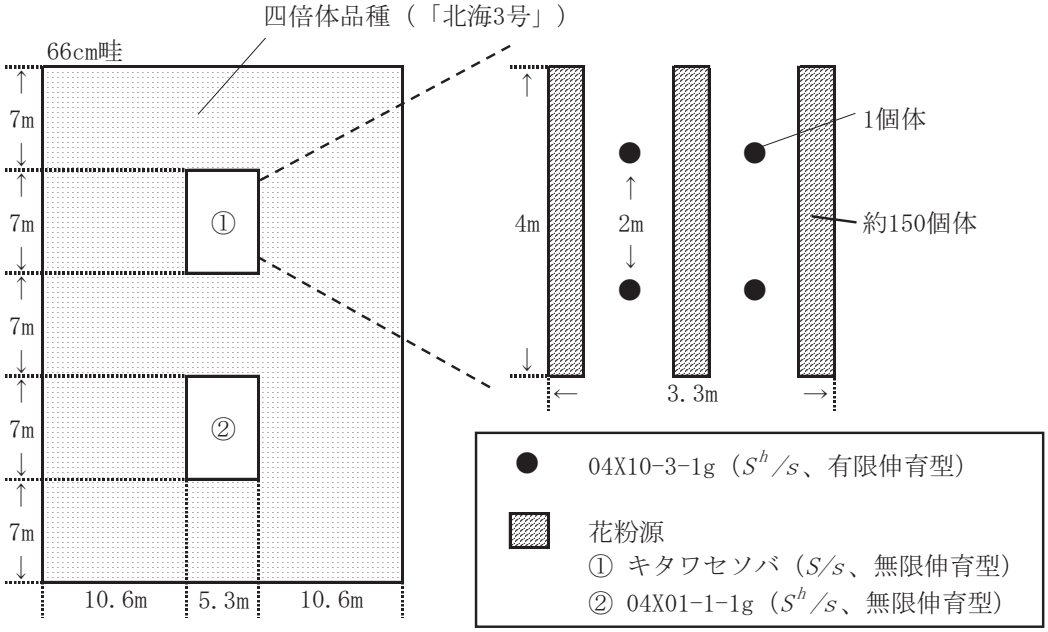
柱花個体と長柱花個体の分離が見られたが，淘汰は行わずに等長柱花・長柱花集団の花粉源として利用した。一方，「キタワセソバ」は，通常の短柱花・長柱花集団である。

(２)異なる花粉源における他殖程度の比較(隣接した四倍体隔離プロットでの試験)

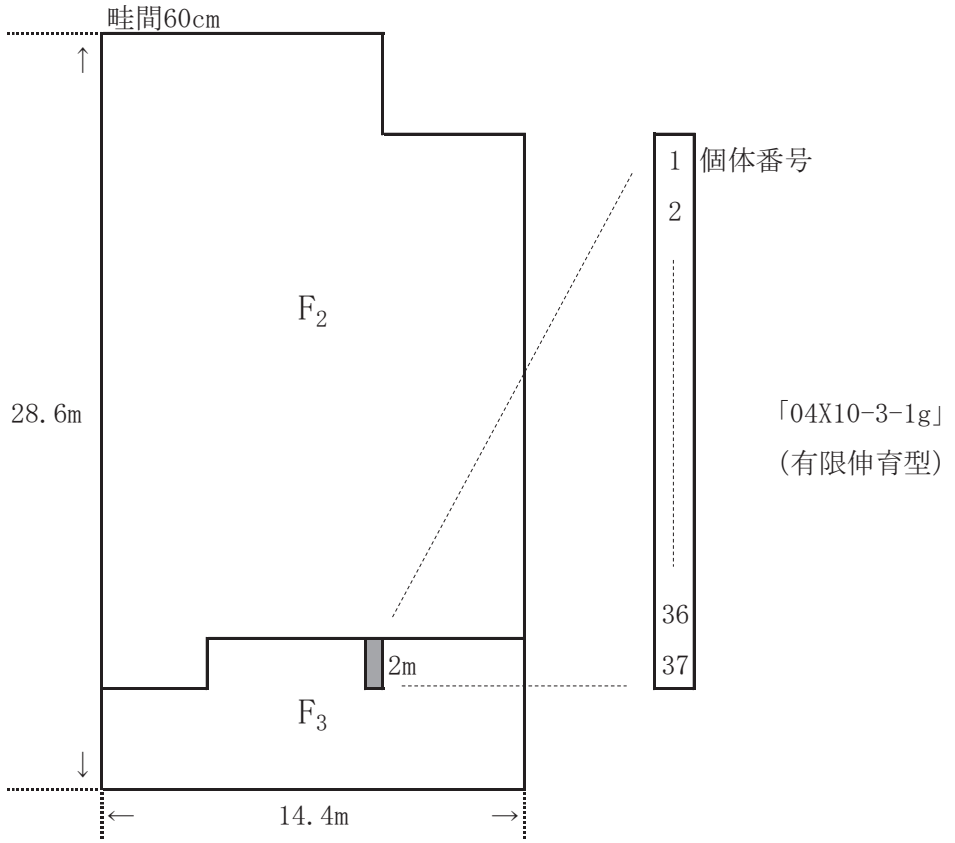
媒介昆虫の飛来をできる限り同じ条件にするとともに，混交や周辺圃場からの花粉の汚染をなるべく回避するため(FUNATSUKI *et al.* 2000a)，２つの隣接する四倍体隔離プロットを北海道農業研究センター芽室研究拠点内に設けた(第Ⅱ－２図)。2005年５月31日に，花粉の汚染防止を目的とする隔離用の四倍体品種「北海３号」を播種し，６月７日に有限伸育型・自家和合性ソバ系統の「04X10-3-1g」，および，花粉源として無限伸育型・自家和合性ソバ系統の「04X01-1-1g」ならびに無限伸育型・開放受粉品種の「キタワセソバ」を各隔離プロット内に第Ⅱ－２図の通り播種した。有限伸育型・自家和合性系統の「04X10-3-1g」は，開花初期の７月19日に間引いて各所１本立ちとし，既に開花した花をすべて摘み取って蕾のみを残した。野外の昆虫相は自然条件のままとし，子実の黒化率が８～９割に達した８月30日に，１個体ずつネットに入れて収穫し，その後，乾燥，脱穀，精選を行った。採種した種子の一部は，10月28日～12月28日の間に，温室内のプランター(60cm ×60cm)に播種し，約２ヶ月後に後代の花型と伸育型の調査を行った。

(３)系統栽培を行う自家和合性ソバ育成圃場における他殖程度

調査は，北海道農業研究センター芽室研究拠点内の自家和合性ソバ育成圃場（約400㎡)において実施した。育成圃場には，F_2およびF_3世代の自家和合性ソバが１系統１畦(１または２m)ずつ，合計326系統が植えられていた。いずれの系統も長柱花個体と等長柱花個体の交雑後代であるため，育成圃場内には長柱花個体と等長柱花個体のみが存在し，短柱花個体は存在しなかった。有限伸育型系統の「04X10-3-1g」は，圃場の中央より南側に位置し(第Ⅱ－３図)，他系統とともに，2005年６月２日に80粒(２m・１畦)を播種した。７月13日には，系統内の長柱花個体や生育不良個体を淘汰して，等長柱花37個体を残した。野外の昆虫相は自然条件のままとし，子実の黒化率が８～９割に達した８月23日に，畦の北端より順に番号を付して，１個体ずつネットに入れて収穫し，その後，乾燥，脱穀，精選を行った。採種した種子の一部は，温室内のプランター（60cm ×60cm)に播種して，約２ヶ月後に後代の花型と伸育型を調査した。なお，育成圃場で栽培した「04X10-3-1g」以外の自家和合性系統は，全て無限伸育型個体間の交配に由来する。



第Ⅱ－２図　四倍体隔離プロットにおける試験供試材料の配置



第Ⅱ－３図　自家和合性ソバ育成圃場における有限伸育型系統の配置

「04X10-3-1g」以外は、全て無限伸育型の系統。

２）結果および考察

本試験では昆虫相の定量的な把握を行っていないが，試験圃場にはソバの花粉媒介を行うハナアブ類，ハチ類，クロバエ類などが多数飛来するのを観察しており，近隣で栽培していた他殖性の普通ソバは，例年通りに結実していた。供試系統の「04X10-3-1g」，「04X01-1-1g」，「キタワセソバ」の開花時期には大きな違いがなく，種子親である「04X10-3-1g」の開花期間には，花粉源もほぼ同様に開花していた。なお，自家和合性系統の「04X10-3-1g」と「04X01-1-1g」は２回の自殖を経たＦ$_3$世代に相当するが，開放受粉品種の「キタワセソバ」よりも明らかに生育が劣り，近交弱勢による草勢の劣化と考えられた。

（１）異なる花粉源における他殖程度の比較（隣接した四倍体隔離プロットでの試験）

２つの四倍体隔離プロットには，合わせて８個体の有限伸育型・等長柱花個体を供試したが，いずれの後代からも長柱花個体の分離が見られたことから（第Ⅱ－９表），供試個体の*S*座の遺伝子型は，全てS^hsのヘテロ型であったと考えられた。一方，後代における有限伸育型個体の出現率は，花粉源が「04X01-1-1g」（等長柱花・長柱花集団）の場合は94.0％，「キタワセソバ」（短柱花・長柱花集団）の場合は89.5％と，「キタワセソバ」の方がわずかに低いものの，いずれも90％前後の高い割合であり（第Ⅱ－９表），花粉源による大きな差異は認められなかった。普通ソバの有限伸育型は劣性一遺伝子（*d*）支配の形質であるため（Funatsuki *et al.* 1996；Funatsuki *et al.* 2000b），自殖あるいは有限伸育型同士の交配後代は有限伸育型（*dd*）となるが，無限伸育型（*DD*）と交雑すると後代は無限伸育型（*Dd*）になる。隔離プロット内には，有限伸育型４個体に対して無限伸育型が約450個体の割合で植えられており，有限伸育型個体同士が交配する可能性は確率的に低く，後代で出現した有限伸育型個体の大部分は自殖由来であると考えられる。以上のことは，媒介昆虫の存在する条件でも自家和合性ソバが高率で自殖することを示す一方，他殖も1割程度起こる可能性があることを示唆している。

第Ⅱ－９表　四倍体隔離プロットで栽培した有限伸育型・等長柱花個体の後代における花型と伸育型

(1)「04X01-1-1g」（無限伸育型・自家和合性系統）が花粉源

個体	有限伸育型(*dd*)			無限伸育型（*Dd*）			*S*座の推定	有限伸育型	4個体
位置	等長柱花	長柱花	短柱花	等長柱花	長柱花	短柱花	遺伝子型	出現率(%)	平均(%)
北東	157	52	0	7	3	0	S^hs	95.4	**94.0**
北西	164	48	0	16	6	0	S^hs	90.6	
南東	184	56	0	8	4	0	S^hs	95.2	
南西	166	61	0	8	4	1	S^hs	94.6	

(2)「キタワセソバ」（無限伸育型・開放受粉品種）が花粉源

個体	有限伸育型(*dd*)			無限伸育型（*Dd*）			*S*座の推定	有限伸育型	4個体
位置	等長柱花	長柱花	短柱花	等長柱花	長柱花	短柱花	遺伝子型	出現率(%)	平均(%)
北東	159	43	0	5	3	11	S^hs	91.4	**89.5**
北西	142	43	0	14	6	19	S^hs	82.6	
南東	161	49	0	3	3	9	S^hs	93.3	
南西	158	54	0	4	3	15	S^hs	90.6	

（２）系統栽培を行う自家和合性ソバ育成圃場における他殖程度

供試した等長柱花37個体のうち，後代での長柱花個体の分離があるものが25個体，分離がないものが12個体であり，それぞれ，*S* 座に関する遺伝子型がヘテロ型の S^hs およびホモ型の S^hS^h であると考えられた(第Ⅱ－10表)。後代における有限伸育型の出現率は概ね90％以上であり，個体の栽植位置による違いもほとんどなく，他系統との混交程度には大差がないと考えられた。また，*S* 座の遺伝子型で比較すると，ホモ型(S^hS^h) 12個体における後代の有限伸育型出現率は97.6％，ヘテロ型(S^hs) 25個体は95.1％であり，ホモ型の混交が若干少ない傾向であったが，その差異は僅かであった。このため育種の戦略としては，確率的に１割弱の混交が起こり得ることを認識しながら，等長柱花を有する優良個体を選抜し，世代を進めながら *S* 座の固定を図る進め方が効果的と判断した。なお，後代の有限伸育型出現率は，四倍体隔離圃場で１本植えにした場合よりも数％高く，系統内での相互交配もある程度起きている可能性が推察された。

以上の結果から，*F. homotropicum* に由来する等長柱花型の自家和合性ソバは，媒介昆虫の存在する野外で栽培しても，概ね９割以上が自殖により結実すると考えられた。この結果は，子実の有翅粒を形態マーカーとして自家和合性ソバの他殖程度を調べた既報(HAYASHI *et al.* 2004)とも概ね一致しており，花柱と花糸の長さがほぼ等しいため，概ね自動自家受粉すると考えられた。一方，育種選抜においては，1割程度の他殖が起こり得ることを念頭に入れる必要がある。つまり，個体選抜と系統展開を繰り返す系統育種法により純系育成を目指す場合，混交により生じた個体を選抜しないよう，以下のような注意を払うべきと考える。(1) 混交により生じた個体は，多くの場合に雑種強勢により生育が旺盛となるため，系統栽培した際，系統内で生育旺盛な1割程度の個体を淘汰し，残りの個体から選抜を行う。(2) 系統群内での系統間比較を行い，生育が極めて旺盛な系統は選抜対象にしない。(3) 圃場条件での育種選抜は初期～中期世代にとどめ，後期世代では隔離網室や隔離圃場で栽培，異形淘汰，選抜等を行い，純系を養成・維持する。現在，北海道農業研究センターにおいては，これらに注意を払いながら自家和合性ソバの選抜を実践しており，これまで概ね問題なく系統の養成が進んでいる。

３．自家和合性ソバの温湯除雄法

優良な形質を有する自家和合性ソバ系統を開発するためには，自家和合性系統間の交配により，有用遺伝子を集積することが必要と考えられる。自家和合性系統間の交配では，開花前日に蕾の一部を切除し，ピンセットで葯を取り除く除雄操作が必要となるが，蕾が小さいために手先の器用さを要し，多大な労力と時間が掛かる。本節では，自家和合性ソバ系統の除雄を簡易化し，交配に関わる作業の省力化を図るため，温湯処理による除雄技術の開発を行った。

第Ⅱ－10表　自家和合性ソバ育成圃場で系統栽培した有限伸育型・等長柱花個体の後代における花型と伸育型

個体番号	有限伸育型(*dd*) 等長柱花	有限伸育型(*dd*) 長柱花	無限伸育型(*Dd*) 等長柱花	無限伸育型(*Dd*) 長柱花	推定遺伝子型	有限伸育型出現率(%)
1	115	44	4	0	S^hs	97.5
2	75	14	2	0	S^hs	97.8
3	139	52	10	6	S^hs	92.3
4	58	0	4	0	S^hS^h	93.5
5	187	53	18	4	S^hs	91.6
6	182	84	14	3	S^hs	94.0
7	214	60	11	4	S^hs	94.8
8	68	21	0	0	S^hs	100.0
9	77	0	3	0	S^hS^h	96.3
10	42	36	0	0	S^hs	100.0
11	108	30	6	1	S^hs	95.2
12	134	32	9	2	S^hs	93.8
13	52	0	0	0	S^hS^h	100.0
14	12	3	0	0	S^hs	100.0
15	155	51	4	2	S^hs	97.2
16	152	48	10	2	S^hs	94.3
17	28	0	1	0	S^hS^h	96.6
18	95	38	1	0	S^hs	99.3
19	14	0	0	0	S^hS^h	100.0
20	83	20	3	2	S^hs	95.4
21	62	0	0	0	S^hS^h	100.0
22	224	0	8	0	S^hS^h	96.6
23	94	28	2	0	S^hs	98.4
24	22	0	0	0	S^hS^h	100.0
25	32	0	0	0	S^hS^h	100.0
26	158	47	13	2	S^hs	93.2
27	92	20	6	1	S^hs	94.1
28	44	19	5	0	S^hs	92.6
29	174	51	11	3	S^hs	94.1
30	95	26	14	1	S^hs	89.0
31	75	27	2	0	S^hs	98.1
32	92	0	3	0	S^hS^h	96.8
33	78	0	1	0	S^hS^h	98.7
34	54	15	1	0	S^hs	98.6
35	190	61	8	1	S^hs	96.5
36	221	0	4	0	S^hS^h	98.2
37	157	57	7	1	S^hs	96.4
S^hS^h計	960	0	24	0		**97.6**
S^hs計	2894	937	161	35		**95.1**
合計	3854	937	185	35		**95.6**

1） 材料および方法

(1)材料養成，温湯処理および人工授粉

供試材料には，北海道農業研究センターで育成中の自家和合性系統を使用した。交配母材として北方系の品種や在来種を使用しているため，いずれの系統も日長感応性が弱く，夏型の生態型を有していた。材料は直径10.5cm の育苗ポットに１粒ずつ播種し，開花始期～盛期に達するまで温室内で養成し，花型が等長柱花であることを確認の上で供試した。なお，温室は自然日長(約10 ～ 15時間)で，最低室温を

15℃前後に加温し，高温域は28℃で窓が自動開閉して外気を取り込む設定で管理した。温湯処理には最頂花房を用い，事前に不要な分枝や花房を切除すると共に，最頂花房内の既に開花した花や結実種子をすべて取り除き，蕾のみを残した。温湯処理は，交配前日の午後２時～５時の間に，最頂花房全体を恒温水槽（Thermal Robo TR-1A，As One，水槽194×336×156mm）に一定時間浸漬することで実施し，翌朝に開花した花の萼に赤色マーカーで印を付けて調査対象とした。人工授粉は，開花当日（温湯処理翌日）の午前中に実施し，温湯処理を施さない別系統の個体から採取した花の葯を，温湯処理した花の柱頭に擦り付けて行った。なお，恒温水槽の水温はマイコン式ＰＩＤ制御で調節されていたが，設定温度＋0.5℃～－0.1℃の間で推移しており，標準温度計で機器の表示水温が正確であることを確認した。また，恒温水槽は循環式であり，花房の浸漬は，温度むらを回避するために吹き出し口付近を避けて行った。

（２）温湯処理の処理温度・処理時間と自殖による着粒程度

供試材料として，有限伸育型の自家和合性系統「04X10-3-1g-0」を用いた。「04X10-3-1g-0」は，有限伸育型品種「Sumchanka」の長柱花個体と無限伸育型の等長柱花個体（F_1BC_4（キタユキ）から選抜した子実非脱落性個体 Y12-20）との交配F_4世代で，F_2での個体選抜により有限伸育型を固定し，F_3で等長柱花個体を自殖させてバルク採種した系統である。温湯処理温度は39～44℃の１℃刻みに設定し，処理時間を2.5，５，7.5，10分間の４水準とした。2006年１月26日に播種し，温室内で養成した後，播種後35日目に42℃～44℃，播種後42日目に39℃～41℃の温湯処理を行った。なお，植物体の生育ステージは，最頂花房が開花始期～開花盛期に達する頃であった。処理翌日に開花した花は，ピンセットで同一花内の葯と柱頭を接触させる操作を施して自家受粉を促し，その後，媒介昆虫の侵入しない温室内で養成して，温湯処理６日後における痩果の肥大により着粒を判定した。なお，温湯処理を行わない無処理区を設け，処理区と同日に開花した花について，同一花内の葯と柱頭を接触させる操作を施し，自殖による着粒程度を調べた。

（３）温湯処理後の人工授粉による着粒程度および交配後代の伸育型

供試材料として，自家和合性系統で有限伸育型の「04X10-3-1g-0」および無限伸育型の「04X05-1-2g-3-1g-0g」を用いた。「04X05-1-2g-3-1g-0g」は，北海道内で収集された無限伸育型の遺伝資源「端野緋牛内」の長柱花個体と，無限伸育型の等長柱花個体 Y12-20（F_1BC_4（キタユキ）から選抜した子実非脱落性個体）との交配F_6世代で，無限伸育型（*DD*）を示す。2006年１月26日に育苗ポットに播種し，温室内で植物体を養成した後，播種後48日目（最頂花房がほぼ開花盛期）に温湯処理を実施した。上記試験の結果を踏まえ，温湯処理の長さを５分間，処理温度を41，42，43℃に設定した。温湯処理後に人工授粉を行う授粉区と，行わない無授粉区を設け，授粉区は両系統間で相互交配を行った。交配５日後（温湯処理６日後）における痩果の肥大により着粒を判定し，また，種子が黒化するまで登熟させて成熟種子数を数え，それぞれ交配花数に対する結実率を算出した。無処理区として温湯処理を施さない区を設け，処理区と同日に開花した花に赤色マーカーで印を付け，自殖による着粒程度を調べた。なお，無授粉区においても，ピンセットで同一花内の葯と柱頭を接触させる操作を施し，念のため自家受粉を促した。

「04X10-3-1g-0」（有限伸育型）を雌親，「04X05-1-2g-3-1g-0g」（無限伸育型）を雄親とする交配では，交雑の有無により次代の伸育型が異なると考えられる。このため，採種した種子を休眠打破のため１ヶ月間ほど常温で保存した後，５月12日に温室内に播種し，次代の伸育型を調査した。なお，対象区として，温湯無処理区の自殖種子についても温室内で栽培し，次代の伸育型を同様に調査した。

（４）本温湯除雄法の他系統への適用性の検証

供試材料として，育成途中の自家和合性ソバ９系統（「牡丹そば」「キタワセソバ」「キタユキ」の各品種，選抜系統の「端野50」「端野43」および遺伝資源の「端野緋牛内」の長柱花をそれぞれ雌親，自家和合性個体を雄親とする交配のF_3～F_6世代を含む，いずれも無限伸育型の系統）を用いた（第Ⅱ－14表）。2006年３月28日に播種し，温室内で養成して等長柱花の花型を確認した後，播種後34～40日目にかけて，上記の方法で42℃・５分間の温湯処理を

行った。なお，温湯処理を行った個体は，最頂花房が開花始期～開花盛期に達していた。温湯処理後の人工授粉の有無により，無授粉区と授粉区(雄親「04X49-4-1-1g-1g」;「キタワセソバ」を片親とするF_5世代の自家和合性系統)を設け,開花数(授粉花数)に対する着粒率ならびに結実率を調査した。なお,無授粉区においても，ピンセットで同一花内の葯と柱頭を接触させる操作を施し，念のため自家受粉を促した。

2） 結果および考察

(1)温湯処理の処理温度・処理時間と自殖による着粒程度

温湯処理の処理温度・処理時間と自殖による着粒程度との関係を第Ⅱ－11表に示した。温湯処理を施すことにより,自殖による着粒率の低下が認められ,着粒率が０％となる条件は，39℃では10分間，40℃では7.5分間，41℃では５分間，42 ～ 44℃では2.5分間であった。自殖による結実を回避するには，温湯処理は,最低限これらの条件以上で行う必要がある。

第Ⅱ－11表　温湯処理の処理温度・処理時間と自殖による着粒程度

（供試系統番号：04X10-3-1g-0，有限伸育型）

処理温度	処理時間(分間)	個体数	処理花数(a)	着粒数(b)	着粒率(b)/(a)(%)
無処理		5	27	26	96.3
39℃	2.5	5	42	28	66.7
	5.0	5	33	9	27.3
	7.5	5	34	1	2.9
	10.0	5	41	0	0
40℃	2.5	5	37	10	27.0
	5.0	5	28	3	10.7
	7.5	5	34	0	0
	10.0	5	36	0	0
41℃	2.5	5	28	3	10.7
	5.0	5	28	0	0
	7.5	5	41	0	0
	10.0	5	44	0	0
42℃	2.5	5	26	0	0
	5.0	5	25	0	0
	7.5	5	24	0	0
	10.0	5	25	0	0
43℃	2.5	5	19	0	0
	5.0	5	21	0	0
	7.5	5	20	0	0
	10.0	5	31	0	0
44℃	2.5	5	24	0	0
	5.0	5	18	0	0
	7.5	5	22	0	0
	10.0	5	26	0	0

一方，44℃で7.5分間以上の処理を行うと，高温障害と見られる葉の退色や,翌日の開花抑制が見られ,条件が厳しすぎて交配には適さないと考えられた。また，43℃・５分間以上の処理では，無処理よりも若干の開花遅延が認められたが，午前中にはほぼ全て開花し，交配作業には支障がなかった。

(2)温湯処理後の人工交配による着粒程度

上記の結果を踏まえ，処理時間を５分間に固定して41 ～ 43℃で温湯処理を実施し，翌朝に開花する花に人工授粉を行って，着粒程度を調べた。その結果，いずれの処理温度でも，人工授粉により60 ～ 80％台の高い着粒率が得られ，処理温度による大きな差異は見られなかった(第Ⅱ－12表)。一方，温湯無処理区の自殖による着粒率は,「04X10-3-1g-0」で82.8 %,「04X05-1-2g-3-1g-0g」で72.7 %であり,温湯処理後の人工授粉による着粒率と自殖による着粒率は同程度であった。このことから，自家和合性ソバの雌性器官は，41 ～ 43℃・５分間の温湯処理でも生殖機能を喪失せず，雄性器官よりも熱に対する耐性が高いと考えられた。結実率は，着粒率と比較して10％前後少ないが，これは種子の登熟過程でしいなが発生するためであり，温湯無処理区の自殖種子においてもほぼ同様に成熟種子数の減少が認められた。なお，41℃・５分間の処理は,「04X05-1-2g-3-1g-0g」で自殖による結実が１粒認められたことから，除雄が不完全な可能性がある。また,43℃・５分間の処理では，若干の開花遅延が見られたことを考慮すると，42℃・５分間が妥当な処理温度・処理時間であると判断した。

(3)交配次代における伸育型

有限伸育型の個体を雌親，無限伸育型の個体を雄親とする交配の場合，有限伸育型が一遺伝子に支配される劣性形質であるため(FUNATSUKI *et al.* 1996)，次代は，交配が成功していれば無限伸育型，自殖していれば有限伸育型になる。「04X10-3-1g-0」(有限伸育型)を自殖させた場合，生育したすべての次代が有限伸育型であったのに対し,「04X10-3-1g-0」(有限伸育型)×「04X05-1-2g-3-1g-0g」(無限伸育型)の組合せでの温湯除雄・人工交配では，41，42，43℃の処理温度とも，生育したすべての次代個体が無限伸育型であった(第Ⅱ－13表)。また，これらの次代は，自殖後代と比較しても外見的に明らかに旺盛な

第Ⅱ－12表　41 ～ 43℃・５分間の温湯処理後の人工授粉による結実程度

系統番号・人工授粉	処理温度	個体数	処理花数 (a)	着粒数 (b)	結実数 (c)	着粒率 (b)/(a) (%)	結実率 (c)/(a) (%)
04X10-3-1g-0（有限伸育型）							
	無処理	5	64	53	50	82.8	78.1
無授粉区	41℃	5	56	0	－	0	－
	42℃	5	39	0	－	0	－
	43℃	5	57	0	－	0	－
授粉区[1)]	41℃	5	57	42	37	73.7	64.9
	42℃	5	49	42	40	85.7	81.6
	43℃	5	48	30	27	62.5	56.3
04X05-1-2g-3-1g-0g（無限伸育型）							
	無処理	5	44	32	26	72.7	59.1
無授粉区	41℃	5	45	1	－	2.2	－
	42℃	5	46	0	－	0	－
	43℃	5	51	0	－	0	－
授粉区[2)]	41℃	5	50	34	31	68.0	62.0
	42℃	5	48	40	37	83.3	77.1
	43℃	5	51	36	35	70.6	68.6

[1)] 花粉親：04X05-1-2g-3-1g-0g（無限伸育型）。
[2)] 花粉親：04X10-3-1g-0（有限伸育型）。
－ データなし。

生育を示し，交雑によりヘテロシスが発現したものと推察された。なお，第Ⅱ－12表の結実数よりも，第Ⅱ－13表での調査個体数が少ないのは，種子の休眠(WANG and CAMPBELL，2000)などにより，発芽しないものがあったためである。

一方，逆交配の「04X05-1-2g-3-1g-0g」(無限伸育型)×「04X10-3-1g-0」(有限伸育型)では，交配の成否にかかわらず，次代は種子親と同じ無限伸育型になる。実際に，生育したすべての次代個体は無限伸育型であったが，逆交配と同様，自殖後代と比較して明らかに旺盛な生育を示し，交雑によりヘテロシスが発現したものと考えられた。以上の結果から，温湯除雄ならびに人工交配によって，自家和合性系統間の交雑種子が確かに得られることを確認できた。

(４)本温湯除雄法の他系統における除雄程度ならびに人工交配成功率

42℃・５分間の温湯処理は，供試した９系統すべてに対して有効であり，自殖による着粒率は全系統で０％となり，本法により完全な除雄が可能であった(第Ⅱ-14表)。また，温湯処理後に人工授粉を行った場合，授粉花数に対する着粒率は63.0 ～ 80.0％，結実率は59.6 ～ 79.0％であり(第Ⅱ－14表)，実用上，問題ない水準で交雑種子が得られることが確認できた。

以上の結果から，開花前日の蕾に対して42℃・５分間の温湯処理を施す方法は，自家和合性ソバの除雄法として実用性が高いと考えられた。現在，自家和合性ソバを雌親として交配を行う全ての場合で，

第Ⅱ－13表　温湯処理・人工授粉の次代における伸育型

(供試系統番号：04X10-3-1g-0（有限伸育型))

温湯処理／授粉	調査個体数	伸育型	
		有限伸育型	無限伸育型
無処理／自家受粉	31	31	0
41℃・5分間／人工授粉[1)]	26	0	26
42℃・5分間／人工授粉[1)]	32	0	32
43℃・5分間／人工授粉[1)]	15	0	15

[1)] 花粉親：04X05-1-2g-3-1g-0g（無限伸育型）。

第Ⅱ－14表　42℃・５分間の温湯処理の除雄程度と人工授粉による結実程度

系統番号	交配組合せ	世代	人工授粉	個体数	処理花数 (a)	着粒数 (b)	結実数 (c)	着粒率 (b)/(a) (%)	結実率 (c)/(a) (%)
04X01-2-1g-2	「キタワセソバ」×「Y12-20」[2]	F_4	無授粉区	5	44	0	0	0	0
			授粉区[1]	5	47	31	28	66.0	59.6
04X05-1-1g-1	「端野緋牛内」×「Y12-20」[2]	F_4	無授粉区	6	62	0	0	0	0
			授粉区[1]	5	62	49	49	79.0	79.0
04X05-1-1g-1-1g-1g	「端野緋牛内」×「Y12-20」[2]	F_6	無授粉区	4	45	0	0	0	0
			授粉区[1]	3	46	29	28	63.0	60.9
04X08-1-2g-1	「キタユキ」×「Y12-20」[2]	F_4	無授粉区	4	42	0	0	0	0
			授粉区[1]	3	37	26	24	70.3	64.9
04X17-5-2	「端野50」×「sf(Y12-20)」[3]	F_3	無授粉区	5	56	0	0	0	0
			授粉区[1]	4	50	38	38	76.0	76.0
04X37-1-1-3g	「端野43」×「sf(Y12-20)」[3]	F_4	無授粉区	3	40	0	0	0	0
			授粉区[1]	3	35	28	27	80.0	77.1
04X42-3-2-1g	「端野50」×「sf(Y12-20)」[3]	F_4	無授粉区	2	19	0	0	0	0
			授粉区[1]	2	19	14	13	73.7	68.4
04X70-1-1	「キタワセソバ」×「sf(Y12-20)」[3]	F_3	無授粉区	5	80	0	0	0	0
			授粉区[1]	4	79	56	49	70.9	62.0
05X12-2-1	「牡丹そば」×「sf(Y12-20)」[3]	F_3	無授粉区	7	75	0	0	0	0
			授粉区[1]	7	85	64	60	75.3	70.6

[1] 花粉親：04X49-4-1-1g-1g。
[2]「キタユキ」と*F. homotropicum*の種間交雑に「キタユキ」を連続戻し交雑したF_1BC_4集団から，子実非脱落性により選抜された個体。
[3]「Y12-20」の自殖後代。

本法による除雄を実施しており，交配作業の省力・効率化を実現している。

４．自家和合性ソバ近交系統の生産力

普通ソバは異型花型自家不和合性を有する虫媒の他殖性作物であり，受粉の大部分をハナアブやハチなどの媒介昆虫に依存する。このため，媒介昆虫の活動により結実が左右され，収量が不安定な要因の１つと言われている。また，生殖様式が複雑であるが故に，精緻な育種体系の構築が難しく，育種的にも収量性の改善がほとんど進んでいない。普通ソバへの自家和合性の導入は，自殖による結実の安定化や，系統育種体系の構築による相加的遺伝効果の集積により，安定多収化を実現できると期待されているが，一方で，近交弱勢の懸念もある(MARSHALL, 1979；NOMURA *et al.* 2002)。自家和合性ソバは，自殖を主体とする生殖様式の観点から，他の自殖性作物と同様に固定品種として遺伝的に安定なものを作出する必要がある。このため本節では，自殖中期～後期世代の自家和合性系統についての生産力評価を行い，固定品種育成の方向性について議論した。

１） 材料および方法

供試材料として，第Ⅱ－15表の自家和合性５系統(F_5～F_8)および標準・比較品種として「キタワセソバ」および「キタユキ」を用いた。自家和合性系統は，系統育種法に準じて個体選抜と系統選抜を繰り返しながら養成した近交系統であり，*S*座に関しては自家和合性(S^h)で遺伝的に固定し，長柱花の分離はない。また，標準品種と比較品種は，異型花型自家不和合性の開放受粉品種であり，いずれも北海道の優良品種に認定されている。

第Ⅱ－15表　生産力評価に供試した自家和合性系統の世代と由来

系統番号	世代	由来
04X05-1-1g-1-2g-0g-0g-0	F_8	「端野緋牛内」×「Y12-20」[1]
04X05-1-1g-1-1g-1g-0	F_7	「端野緋牛内」×「Y12-20」[1]
04X49-4-1-1g-5g-2-0g	F_7	「キタワセソバ3-1」×sf(Y12-20)-2[2]
04X49-4-1-1g-5g-3-0g	F_7	「キタワセソバ3-1」×sf(Y12-20)-2[2]
04X50-2-1-1g-0	F_5	「端野50-5-1」×sf(Y12-20)-2[2]

[1]「キタユキ」と*F. homotropicum*の種間交雑に「キタユキ」を連続戻し交雑したF_1BC_4集団から，子実非脱落性により選抜された個体。
[2]「Y12-20」の自殖後代。

生産力の評価は，北海道農業研究センター芽室研究拠点の乾性火山灰土壌の試験圃場で実施し，１区あたり4.8㎡で３反復の試験区を設け，各供試材料を無作為に配置した。施肥量は慣行に従い，N1.8, P_2O_5 7.2, K_2O 4.2, MgO 1.5 g/ ㎡を作条に施用し，2007年６月６日に播種密度66.7粒 / ㎡で播種を行った。生育期間中には，開花期ならびに倒伏程度を達観で調査するとともに，成熟期には草丈，茎の太さ，一次分枝数，主茎節数を計測した。収穫は，子実の黒化率が８～９割に達した時点で行い，地際から10cm ほどの高さを鎌で刈り取り，地上部全体を寒冷紗に包んで，35℃に設定した通風乾燥舎で1週間ほど乾燥させた。乾燥後は，地上部の全乾物重を測定した後に脱穀・精選し，子実重，千粒重，容積重の計測を実施した。

２） 結果および考察

供試した自家和合性系統の開花期は，「キタワセソバ」（標準）よりもやや遅かったが，成熟期はいずれの系統もほぼ同じであり，生育期間の長さに大きな違いはなかった（第Ⅱ－16表）。自家和合性系統は生育初期から生長が悪く，成熟期に至っても草丈が低く，「04X50-2-1-1g-0」を除くと茎も細かった。達観でも自家和合性系統の草勢が劣るのは明瞭であり，近交弱勢による生育の減退は著しいと考えられた。一方，一次分枝数や主茎節数には，自家和合性系統と「キタワセソバ」とで大きな違いはなく，生育ステージの進行具合に対しては，近交弱勢の影響が比較的小さいものと考えられた。最終的な地上部全乾物重は，「キタワセソバ」よりも全般に3割程度小さく，子実重は標準比29～50と極めて低かった（第Ⅱ－16表）。千粒重も小さい上，容積重もかなり軽い系統が多く，子実の充実がかなり悪かった。

北海道農業研究センターでは，系統選抜法に準じて個体選抜と系統選抜を繰り返しながら自家和合性系統の養成を進めているが，自殖世代が進むと例外なく草勢の減退が起こることを観察しており，近交弱勢の存在は，生産力試験を実施する以前に認識していた。普通ソバへの自家和合性の導入は，受粉における媒介昆虫の必要性がなくなり，結実の安定化は確かに期待できるが，近交弱勢による乾物生産能力の低下のデメリットは非常に大きく，現段階では，自家和合性を利用した実用的な固定品種の育成は，極めて困難と判断している。

５．長柱花の自家不和合性を利用した採種による一代雑種育種

自家和合性ソバの純系育種は，当初，自殖による結実の安定化と相加的遺伝効果の集積による遺伝的改良を通じて，安定多収化が実現できると期待された。しかし，前節の結果から，近交弱勢を本質的に克服することは極めて困難であり，後期世代での生産力の低下を免れないと考えられた。そこで本節では，*F. homotropicum* に由来する自家和合性を用いて養成した近交系統を利用し，近交系統間の単交雑によるヘテロシス育種法の開発を試みた。なお，一代雑種の採種では，長柱花個体の自家不和合性を利用する方法を採用し，最終的には，後代の雑種個体の割合（F_1純度），初期生育におけるヘテロシス程度，一代雑種の収量性を評価して，ヘテロシス育種法の可能性を議論した。

１） 材料と方法

（１）近交系統の養成

本試験で用いた等長柱花および長柱花の近交系統は，第Ⅱ－４図に示す基本的な流れに，若干の修正を加えた方法で養成し，*F. homotropicum* 由来の自家和合性遺伝子（S^h）を有する等長柱花個体の自殖によ

第Ⅱ－16表　中期～後期世代の自家和合性系統の生育および収量関連形質　（播種日　6月6日）

品種・系統番号	世代	開花期（月日）	成熟期（月日）	草丈（cm）	茎の太さ（mm）	分枝数（本）	主茎節数（節）	倒伏程度（0～5）	全重（kg/a）	子実重（kg/a）	標準比（%）	千粒重（g）	容積重（g/L）
04X05-1-1g-1-2g-0g-0g-0	F_8	7.10	8.21	72	6.8	3.8	12.2	0.3	33.7	4.9	34	17.2	429
04X05-1-1g-1-1g-1g-0	F_7	7.10	8.21	88	6.4	3.4	11.7	0.3	30.0	7.3	50	18.9	457
04X49-4-1-1g-5g-2-0g	F_7	7.10	8.21	95	6.6	3.0	12.8	0.3	34.8	4.9	34	24.6	459
04X49-4-1-1g-5g-3-0g	F_7	7.10	8.21	96	6.4	3.2	12.6	0.0	33.1	4.2	29	25.5	453
04X50-2-1-1g-0	F_5	7.10	8.21	95	7.6	3.4	13.8	0.3	34.6	6.1	42	21.4	532
キタワセソバ（標準）		7.07	8.21	121	7.0	3.4	12.1	0.3	46.9	14.6	100	26.1	546
キタユキ（比較）		7.10	8.21	130	7.4	3.3	13.0	0.0	61.9	15.3	105	23.0	565

倒伏程度：0-無，1-微，2-軽，3-中，4-多，5-甚。

り近交度を高めた。等長柱花の近交系統は，系統育種法に準じて等長柱花個体の選抜を繰り返し，系統JはF$_8$世代に相当し，自家和合性遺伝子をホモ(S^hS^h)に有する(第Ⅱ－17表)。一方，長柱花の近交系統は，等長柱花系統を育成する過程で分離する長柱花個体から養成し，隔離網室内でキンバエを媒介昆虫として自殖や相互交配により集団を養成・維持した(船附ら，特許第2958457号)。系統AとGは，F$_3$世代で分離した長柱花の数個体に由来し，その後，隔離網室内で1度増殖したものである(第Ⅱ－17表)。系統B，C，Dは，F$_4$世代で分離した長柱花の数個体に由来する。系統Fは，F$_5$世代で分離した長柱花1個体，系統HとIは，F$_3$世代で分離した長柱花1個体から養成した。これらの近交系統は，F$_1$BC$_4$(キタユキ)からの選抜個体Y12–20との血縁があり，子実非脱落性遺伝子(*sht1*)をホモに有すると考えられ(Matsuiら，2003a)，いずれも北海道の主要品種や在来種との単交雑や連続戻し交雑後代から育成している(第Ⅱ－17表)。

(2)単交雑試験

① 交雑

2007年の夏季に，8系統の長柱花近交系統(系統A～I)と1系統の等長柱花近交系統(系統J)を1対1で組み合わせ，圃場に設置した隔離網室内で単交雑を行った。隔離網室は，幅1m×長さ1m×高さ2mほどのパイプハウスに，目の細かい寒冷紗を被覆して作製した。6月10日に，各長柱花系統および等長柱花系統(系統J)を40粒ずつ，畦間60cm，畦長1mに播種し，開花前と開花期間中の2回，約100個体ずつのキンバエの蛹を隔離網室内に入れ，羽化した成虫により系統間の受粉を促した。収穫は9月中旬に実施し，雌親(長柱花系統)ごとに網袋に詰め，乾燥後に脱穀を行った。なお，系統Jは雄親としてのみ用いたため，収穫は行わなかった。単交雑によって得られた種子は，雌親のアルファベット順に，Hy1からHy9の番号を付した(第Ⅱ－18表)。

第Ⅱ－17表　一代雑種試験に供試した長柱花近交系統と等長柱花近交系統

系統	ID番号	花型	世代	由来
A	04X19-1-1-(P)2[4]	長柱花	F_2S_2	端野 50-3-2 × sf(Y12-20)[2]-1
B	04X36-6-1-2-(P)[3]	長柱花	F_3S_1	端野 50-1-1 × sf(Y12-20)-2
C	04X37-3-1-2-(P)	長柱花	F_3S_1	端野 43-6-1 × sf(Y12-20)-2
D	04X49-4-2-3-(P)	長柱花	F_3S_1	キタワセソバ 3-1 × sf(Y12-20)-2
F	04X42-3-2-1g-1-P1[5]	長柱花	F_4S_1	端野 50-1-2 × sf(Y12-20)-3
G	04X61-1-1-(P)2	長柱花	F_2S_2	キタワセソバ 4-3 × sf(Y12-20)-3
H	05X145-2-2-P1	長柱花	F_2S_1	端野 2-2 × F_3 (端野 43-6-1 × sf(Y12-20)-2)
I	05X147-1-2-P1	長柱花	F_2S_1	端野 2-1-2 × F_3 (端野 43-6-1 × sf(Y12-20)-2)
J	04X05-1-1g-1-2g-0g-0g-0	等長柱花	F_8	端野緋牛内 × Y12-20[1]

1) Y12-20：「キタユキ」と*F. homotropicum*の種間交雑に「キタユキ」を連続戻し交雑したF_1BC_4集団から，子実非脱落性により選抜された個体。
2) sf(Y12-20)：Y12-20の自殖後代。
3) (P)：分離した長柱花個体同士を網枠内でキンバエを媒介昆虫として相互交配したもの。
4) (P)2：増殖のために長柱花個体同士の相互交配を2回繰り返したもの。
5) P1：網室内でキンバエを媒介昆虫として長柱花1個体を自殖させたもの。

第Ⅱ－18表　単交雑試験で得られた単交雑系統のF$_1$純度

単交雑系統	交配組合せ	調査個体数	花型		F$_1$純度(%)
			等長柱花	長柱花	
Hy1	A × J	115	104	11	90.4
Hy2	B × J	106	96	10	90.6
Hy3	C × J	108	104	4	96.3
Hy4	D × J	109	108	1	99.1
Hy6	F × J	107	105	2	98.1
Hy7	G × J	113	109	4	96.5
Hy8	H × J	104	98	8	92.5
Hy9	I × J	101	95	6	94.1

長柱花近交系統(♀)と等長柱花近交系統(♂)との交配を，網室内でキンバエを媒介昆虫として実施。
等長柱花個体を雑種とみなした。

② 温室での試験

単交雑試験で得られた後代のＦ$_1$純度（雑種個体の割合）は，温室内で栽培した次代の花型から推定した。Hy1 ～ Hy9について，約125粒ずつの種子をプランター（60cm ×60cm）に播種し，開花まで温室内で栽培した後，花型を観察して等長柱花個体と長柱花個体に分類した。Ｆ$_1$純度は，観察した総個体数に占める等長柱花個体の割合として算出した。

初期生育における雑種個体のヘテロシス程度は，５つの近交系統（系統 A，B，C，G，およびJ），単交雑で得られたそれぞれの後代（Hy1，Hy2，Hy3，およびHy7），ならびに開放受粉品種の「キタワセソバ」を供試材料として，温室内でポット栽培を行い，主茎長，茎の太さ，地上部乾物重により評価した。なお，その他の系統については，近交系統の種子量不足のため，供試できなかった。各供試材料に対して，乾性火山灰土壌を充填した３つのポット（Φ15cm）を用意し，2007年11月７日に各ポット７粒ずつ播種した後，温室内に無作為に配置した。子葉期に生育不良株などを間引いて１ポットあたり５個体とし，以降７日ごとに，ハイポネックス液肥（６－10－５）の1000倍液を施用しながら，開花数日前まで栽培した。なお，試験期間中の室温は15℃以上に加温しており，夜間は蛍光灯による連続照明を行って長日条件とした。播種後35日目に，１個体ずつ主茎長と第1節間中央部の茎の太さを計測した後，地際部から植物体を収穫してポットごとに紙袋に入れ，80℃に設定した乾燥器内で２日間乾燥して地上部乾物重を測定した。測定値の統計処理としてｔ検定を実施し，単交雑後代と各雌親近交系統との対比較を行った。

③ 圃場での試験

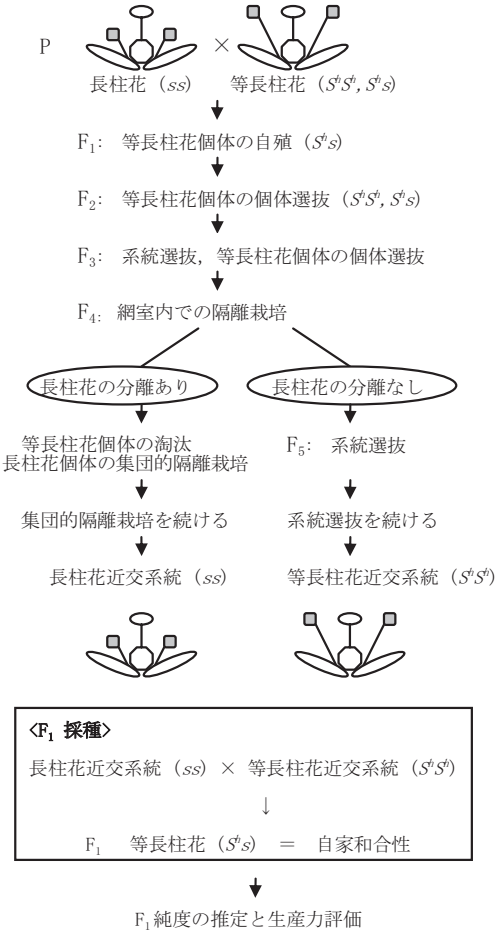
単交雑８系統（Hy1 ～ Hy9）および対照区として開放受粉２品種（「キタワセソバ」および「キタユキ」）を供試し，北海道農業研究センター芽室研究拠点の乾性火山灰土壌の圃場（北緯42度88分，東経143度05分）に，無作為３反復の試験区を設置した。各試験区は面積が4.8㎡で，畦長２m，畦間60cm の４畦植えとし，播種は2008年６月４日に，１畦２条（条間５cm）で株間５cm に点播した。なお，施肥量は慣行の水準（N1.8g/ ㎡，P_2O_5 7.2 g/ ㎡，K_2O 4.2 g/ ㎡）とし，化成肥料を条施した。開花期間中に，各試験区の外側１畦に生育する全個体の花型を調査し，調査個体数に占める等長柱花個体の割合として，Ｆ$_1$純度（雑種個体の割合）を算出した。８月５日には，各試験区の外側１畦に生育する等長柱花10個体と長柱花全個体の草丈ならびに第１節間中央部の茎の太さを計測し，単交雑系統ごとにｔ検定の統計処理を実施して，等長柱花個体と長柱花個体の対比較を行った。収穫期には，試験区の中央２畦の全個体を収穫して寒冷紗で包み，35℃に設定した乾燥舎で１週間ほど乾燥後，脱穀・精選し，子実収量と千粒重の測定を行った。また，試験区の外側２畦に生育する代表的な10個体について，草丈と茎の太さを計測した。

２） 結果と考察

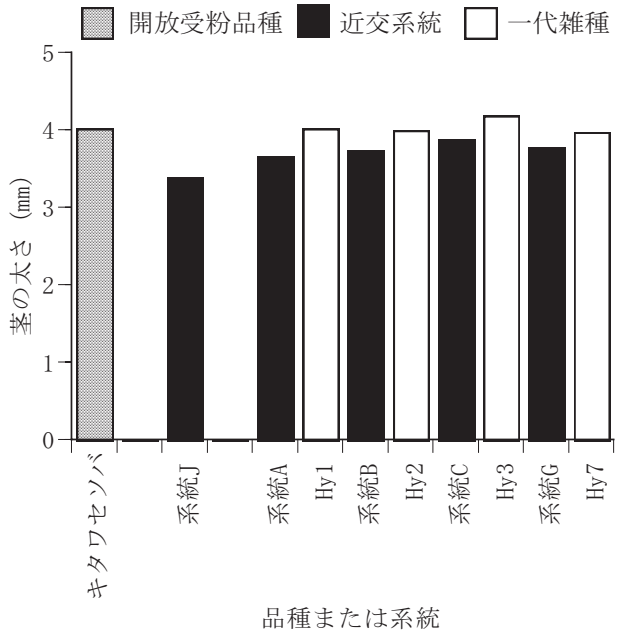
（１）近交系統

等長柱花近交系統（系統J）の養成では，*F. homotropicum* に由来する自家和合性遺伝子（S^h）を利用して自殖を行いながら，長柱花個体の分離が見られなくなるまで等長柱花個体の選抜を繰り返したが（第Ⅱ－４図），選抜の際には，自家和合性の指標である等長柱花の花型のほか，生育の旺盛さや結実の良さを考慮した。前述の通り，圃場条件における自家和合性ソバの他殖率は10％程度と推定されるため（HAYASHI *et al.* 2004；六笠ら，2006a），他殖による雑種強勢を考慮し，生育に優れる上位10％の個体は選抜しないように配慮した。また，後期世代では，他系統との混交を避けて純系を維持するため，網室内での増殖を行った。系統Ｊは，開放受粉品種である「キタワセソバ」と比較すると，主茎長，茎の太さおよび地上部乾物重とも初期生育で劣り（第Ⅱ－５～７図），かなりの近交弱勢が起こっていると考えられた。前節の近交系統の生産力評価では，系統J（系統番号04X05-1-1g-1-2g-0g-0g-0）の収量は「キタワセソバ」の34％でしかなく（第Ⅱ－16表），育成中の他の等長柱花近交系統を見る限りでも，近交弱勢による乾物生産減少のデメリットは，自家和合性の導入による結実安定化のメリットよりも遙かに大きいと考えられた。

長柱花近交系統は，等長柱花近交系統を育成する過程で出現する長柱花の分離個体から養成した（第Ⅱ－４図）。なお，長柱花の自家不和合性遺伝子（*s*）は自家和合性遺伝子（S^h）に対して遺伝的に劣性のため（WOO *et al.* 1999；WANG *et al.* 2005a），長柱花個体（*ss*）はヘテロの等長柱花個体（S^hs）から必然的に

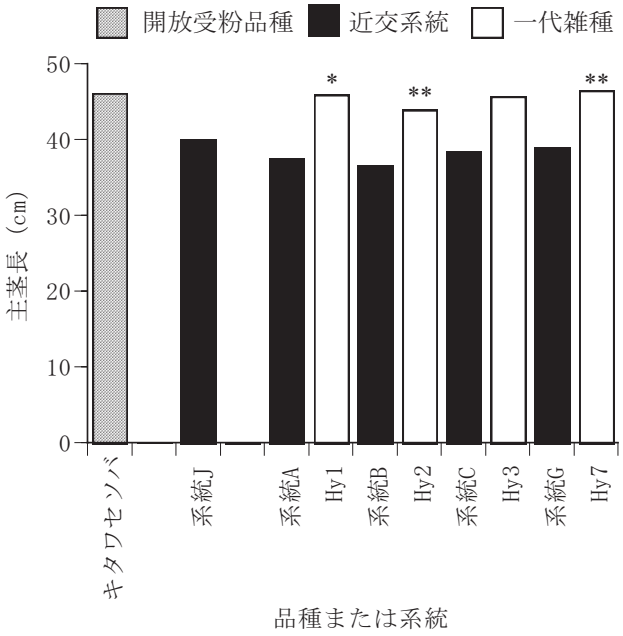


第Ⅱ－４図　長柱花および等長柱花近交系統の養成と単交雑一代雑種生産の基本的な流れ



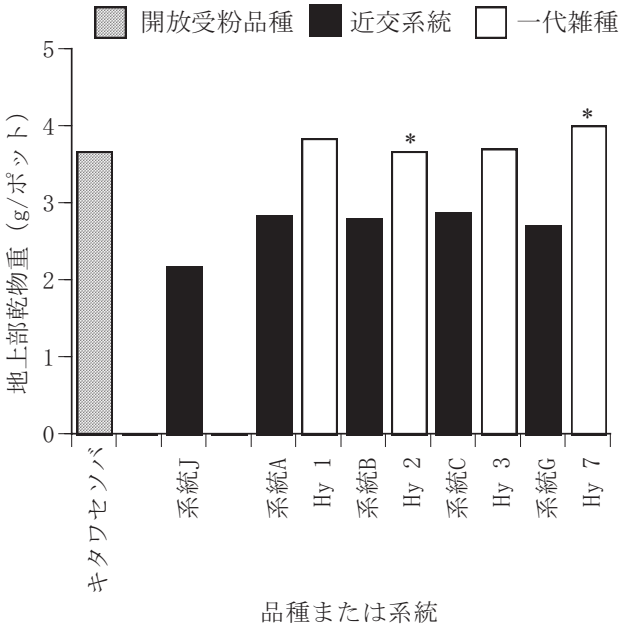
第Ⅱ－６図　温室栽培での播種後35日目(12月12日)における近交系統とその一代雑種の茎の太さの比較

「キタワセソバ」は，北海道で栽培される主要な開放受粉品種。



第Ⅱ－５図　温室栽培での播種後35日目(12月12日)における近交系統とその一代雑種の主茎長の比較

「キタワセソバ」は，北海道で栽培される主要な開放受粉品種。*および**は，ｔ検定により，一代雑種と雌親との間で，それぞれ５％および１％水準で統計的な有意差があることを示す。



第Ⅱ－７図　温室栽培での播種後35日目(12月12日)における近交系統とその一代雑種の地上部乾物重の比較

「キタワセソバ」は，北海道で栽培される主要な開放受粉品種。*は，ｔ検定により，一代雑種と雌親との間で，５％水準で統計的な有意差があることを示す。

分離する。等長柱花近交系統の系統育種では，達観でも近交弱勢による生育の減退が明らかであったため，養成する長柱花近交系統の草勢が落ち過ぎないよう，比較的初期の世代で分離した長柱花個体を系統内で相互交配した（第Ⅱ－17表）。長柱花近交系統は，網室内でのキンバエを媒介昆虫とする相互交配で維持・増殖を行ったが，長柱花個体の自殖（GARBER and QUISENBERRY，1927）や長柱花集団の増殖（船附ら 特許第2958457号）の報告例にある通り，自殖や相互交配による種子生産量は全般に少なかった。長柱花系統を安定的に維持・増殖するには，今後，自家不和合性の一時的な打破を含む，さらに効率的な方法を検討する必要がある。初期生育における主茎長，茎の太さ，地上部乾物重について，長柱花近交系統と開放受粉品種である「キタワセソバ」とを比較すると，全ての長柱花近交系統で生育が劣り，近交弱勢の影響が伺えた（第Ⅱ－５～７図）。しかし，長柱花近交系統は比較的初期の世代において集団内の相互交配を行っているため（第Ⅱ－17表），自殖を繰り返して近交度の高い系統Ｊよりも，生育減退の程度は小さかった。

（２）ヘテロシス

単交雑系統のF_1純度は，温室での試験では90.4％～99.1％（第Ⅱ－18表），圃場での試験では93.2％～99.1％（第Ⅱ－20表）と推定され，両推定値はほぼ一致していた。これらのF_1純度は，MARSHALL（1979）による長柱花個体と短柱花個体を用いた多交配試験での最も高い雑種個体割合に相当する。長柱花個体の柱頭は，短柱花や等長柱花個体の花粉には和合性を示すが，長柱花個体の花粉には不和合性を示すことから（MATSUI *et al.* 2003b；MATSUI *et al.* 2004），高い雑種個体割合が得られた主因は，花粉に対する親和性の差であると考えられた。自然の花粉媒介昆虫を用いて野外の隔離圃場で実施した追試験においても，後代のF_1純度は90％以上が得られており（データ略），圃場での大規模な一代雑種種子の生産も可能であろう。なお，本試験での一代雑種個体は等長柱花の花型を有しており，自家和合性による結実の安定化も期待できる。

単交雑系統の主茎長，茎の太さ，地上部乾物重は，近交系統の両親よりも大きく，初期生育に優れていた（第Ⅱ－５～７図）。単交雑系統と雌親系統との主茎長の差異は，Hy1，Hy2およびHy7において統計的に有意であり，また，地上部乾物重の差異は，Hy2とHy7で統計的に有意であった。優良親ヘテロシスをヘテロシス程度＝100×（F_1－優良親）/優良親の式により算出したところ，地上部乾物重のヘテロシス程度は29.1％から48.1％と推定された。しかしながら，開放受粉品種の「キタワセソバ」との比較では，単交雑系統の生育はほぼ同等であった（第Ⅱ－５～７図）。

雑種個体のヘテロシスは，同一単交雑系統内における長柱花個体と等長柱花個体の生育比較でも再確認でき，圃場試験で供試した全ての単交雑系統において，草丈と茎の太さは，等長柱花個体の方が長柱花個体よりも有意に大きかった（第Ⅱ－19表）。すなわち，一代雑種の採種では，長柱花近交系統を雌親として用いており，単交雑系統内における長柱花個体（*ss*）は，長柱花近交系統内の個体間で相互交配した後代であり，等長柱花個体（S^hs）が真の雑種であるためである。

第Ⅱ－19表　単交雑試験で得られた単交雑系統内の等長柱花および長柱花個体の圃場での生育

単交雑系統	調査個体数		草丈（cm）			茎の太さ（mm）		
	等長柱花	長柱花	等長柱花	長柱花		等長柱花	長柱花	
Hy1	30	4	119.4	81.8	**	7.7	6.2	**
Hy2	30	14	121.2	101.5	**	7.5	6.2	**
Hy3	30	9	135.5	101.2	**	8.3	5.6	**
Hy4	30	2	129.3	72.0	**	8.0	6.1	**
Hy6	30	3	115.3	80.0	**	7.2	5.8	*
Hy7	30	11	134.3	104.0	**	7.8	6.0	**
Hy8	30	15	134.0	95.0	**	7.5	6.3	**
Hy9	30	16	130.5	80.5	**	7.9	5.0	**

草丈と茎の太さは，2008年8月5日に測定した。
*，**：*t*検定において，等長柱花と長柱花の間に，5%または1%水準で有意差があることを示す。

(3)子実生産性

2008年の生育期の気象条件は概ね平穏であり，全ての供試材料で倒伏はほとんど見られなかった。供試した単交雑系統と開放受粉品種の「キタワセソバ」の成熟期はほぼ同じであり，全ての供試材料を同時に収穫した。単交雑8系統のうち，Hy3，Hy4，Hy7，Hy8およびHy9の草丈は「キタワセソバ」とほぼ同程度であり，Hy1，Hy2およびHy6は「キタワセソバ」よりも若干低い傾向があった(第Ⅱ－20表)。子実収量は，全ての単交雑系統で「キタワセソバ」を上回り，平均して10%以上多収であったが，反復間の誤差が大きく，統計的な有意差は検出できなかった。単交雑系統の子実収量が一貫して優れていたことは，開放受粉品種を上回る多収性を，自家和合性一代雑種品種の開発により実現できる可能性を示唆しており，優良な近交系統の養成と組合せ検定を着実に進めることにより，収量性の更なる向上が図れると考えている。なお，今回の単交雑試験に供試した近交系統の遺伝的背景は，それほど異なる訳ではないため(第Ⅱ－17表)，将来的には，遺伝的背景の大きく異なる材料を用いて近交系統の養成を進めるべきと考えている。

以上，長柱花および等長柱花の近交系統の養成は，*F. homotropicum* に由来する自家和合性遺伝子を利用することで容易となり，自殖により近交度を高めながら，相加的遺伝効果の高い形質の選抜が可能である。長柱花の近交系統を雌親，等長柱花系統を雄親とする単交雑一代雑種の生産では，F_1純度90%以上の後代が得られ，一代雑種品種の純度としてはまずまずの水準にあると考えられた。単交雑一代雑種の子実収量は，主力の開放受粉品種を上回る傾向であり，ヘテロシス育種法が普通ソバの収量性の改善に有効である可能性が示された。今後は，技術面で長柱花近交系統の効率的な増殖方法の開発を行うとともに，商業ベースでの実用化に向けて，ヘテロシス育種法の経済性の評価も行うべきと考えている。

6．自家和合性を利用したグリーンフラワー型難脱粒性の遺伝解析

普通ソバは異型花型自家不和合性を有するため，基本的には自殖が困難であり，遺伝解析を行う場合にも，自殖性作物と比較して難しい側面があった。*F. homotropicum* に由来する自家和合性は，前節までの育種的な利用に加え，自殖を通じて遺伝学的解析を簡便にできるという，基礎研究面での利点を有している。グリーンフラワーは，既報告で唯一の難脱粒性の遺伝資源であるが(ALEKSEEVA *et al.* 1988)，遺伝に関する研究蓄積が少なく，育種的な有用性も明らかではない。本節では，グリーンフラワー型の難脱粒性系統「WSK86GF」におけるグリーンフラワー形質について，自家和合性を利用した後代検定により遺伝様式を調べるとともに，グリーンフラワーと小果柄の強さとの関係を調べた。

1) 材料および方法

(1)供試植物体

供試材料の雌親には，他殖性のグリーンフラワー系統である「WSK86GF」の長柱花個体を用いた。グリーンフラワー個体は，花弁(植物学上の萼)の一部が葉のような特徴を有し，花房の外観が緑色を呈している(第Ⅱ－8図)。「WSK86GF」の集団内には花の形態変異が存在し，花弁の葉状の部分が小さ

第Ⅱ－20表　単交雑試験で得られた単交雑系統の圃場栽培での草丈，茎の太さ，子実収量および千粒重

単交雑系統または品種	F_1純度 (%)	収穫日	草丈 (cm)	茎の太さ (mm)	子実収量[1)] (g/m^2)	相対値 (標準 = 100)	千粒重 (g)
Hy1	98.3	8月19日	120	8.2	244	126	26.5
Hy2	93.8	8月19日	121	9.2	215	111	27.6
Hy3	96.1	8月19日	133	8.7	207	107	28.1
Hy4	99.1	8月19日	128	8.3	216	112	27.8
Hy6	98.7	8月19日	115	8.4	215	111	28.2
Hy7	95.2	8月19日	131	8.3	215	111	27.6
Hy8	93.2	8月19日	128	9.5	223	116	29.9
Hy9	93.2	8月19日	129	8.3	213	110	28.8
キタワセソバ（標準）	－	8月19日	130	8.3	193	100	29.2
キタユキ	－	9月1日	145	8.3	221	114	27.1

標準として開放受粉品種の「キタワセソバ」を用いた。
草丈と茎の太さの測定には，系統内の生育中庸な個体を用いた。
1) 子実収量は水分15%換算値



（１）白花　　（２）グリーンフラワー

第Ⅱ－８図　ソバの花房の外観

いものから大きいもの，葉状の部分の色が薄緑から濃緑のもの，花が完全に開花するものから半閉花した状態のものまで確認できた。一方，雄親には白花の自家和合性系統である「04X03-2-1g」，「04X04-1-1g」，「04X07-1-1g」，「04X07-2-1g」および「04X07-3-1g」の等長柱花個体を用いた。これらの系統は，F_1BC_4（キタユキ）の個体番号 Y12-20を系譜上に有し，普通ソバと同様に子実非脱落性の劣性遺伝子（*sht1*）をホモに持つと考えられる（Matsui *et al.* 2003a；Wang *et al.* 2005b）。ただし，自家和合性と花型を支配する *S* 遺伝子座は固定しておらず，花型の分離が見られたため，等長柱花個体を選んで雄親に用いた。つまり，雄親に用いた等長柱花個体は，自家和合性遺伝子をホモ（S^hS^h）またはヘテロ（S^hs）に有していたと考えられる。

本試験では更に，逆交配として白花・長柱花×グリーンフラワー・等長柱花の組合せを実施した。雌親には，「関東１号」，「階上早生」，「北系11号」，「キタワセソバ」の白花・長柱花個体，雄親には，「WSK86GF」と「04X04-1-1g」との交雑 F_2 集団から選抜した，グリーンフラワー・等長柱花個体（「05X48-2-1g」）を供試した。

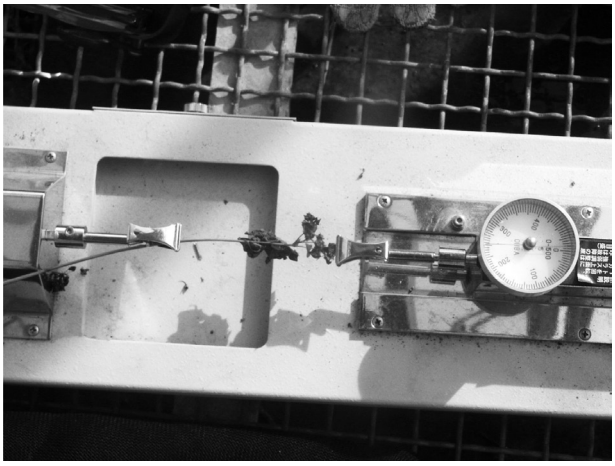
（２）グリーンフラワーと白花との交雑

雌親の「WSK86GF」は育苗ポット（Φ10.5cm）に１粒ずつ播種し，雄親の自家和合性系統はプランター（60×60cm）に系統ごとに播種して，温室内で栽培した。花型間の交雑和合性を考慮して（Matsui *et al.* 2003b），「WSK86GF」の長柱花個体を雌親，白花の等長柱花個体を雄親に用い，交配を2005年２月下旬～３月上旬に実施した。結実種子は交配約１ヶ月後に収穫し，35℃に設定した通風乾燥機内でしばらく乾燥させた後，１粒ずつ育苗ポットに播種した。F_1 世代も温室で養成し，長柱花個体が出現した場合には全て淘汰して，等長柱花個体のみを自殖させた。結実種子は５月下旬に F_1 個体ごとに収穫し，休眠覚醒を促した後，プランター（60×60 cm）に播種した。F_2 個体は，花の形態により４区分（白花・等長柱花，グリーンフラワー・等長柱花，白花･長柱花，グリーンフラワー･長柱花）に分類し，それぞれの個体数を調べた。また，F_2 世代では等長柱花個体のみを自殖させ，後述の方法により，個体ごとに小果柄の抗張強度を測定した。

一方，逆交配では，花型間の交雑和合性の観点から，白花の長柱花個体を雌親，グリーンフラワーの等長柱花個体を雄親とする組合せとした。前述と同様の方法で2005年７月下旬に交配を実施し，F_1 養成では等長柱花個体のみを自殖させ，10月下旬に F_1 個体ごとに収穫した。F_2 種子は，2006年２月中旬にプランター（60×60cm）に播種し，花の形態により上記の４区分に分類して，それぞれの個体数を調べた。また，F_2 世代では等長柱花個体のみを自殖させ，個体ごとに小果柄の抗張強度を測定した。

（３）小果柄の抗張強度の測定

小果柄の抗張強度（果房から種子を引きはがすのに必要な応力）は，Oba ら（1998b）の方法に準じ，子実の黒化率が約80％に達した時点で，茎と種子１



第Ⅱ－９図　小果柄の抗張強度の測定器
小果柄が破断する時の応力を抗張強度とした。

粒を測定器に固定し，引っ張った際に小果柄が破断する時の応力として測定した(第Ⅱ－９図)。グリーンフラワー・長柱花×白花・等長柱花の交配組合せのＦ$_2$世代では，各個体から無作為に100粒を選んで抗張強度を測定し，平均値を算出した。一方，親系統ならびに逆交配のＦ$_2$世代では，測定個体数を増やすために個体あたりの測定回数を減らし，各個体から10粒を無作為に選んで測定して，平均値を算出した。なお，交配親に用いた他殖性系統は，自殖ではほとんど結実しないため，2006年２月中旬に網室のプランター（60×60cm)に播種し，キンバエを用いて受粉後，子実の黒化率が約80％に達した時点で小果柄の抗張強度を測定した。また，自家和合性の親系統については，2006年５月下旬にプランター（60×60cm)に播種し，等長柱花個体を自殖させて，成熟期に小果柄の抗張強度を測定した。

２）結果と考察

(１)グリーンフラワー・長柱花と白花・等長柱花との交雑後代

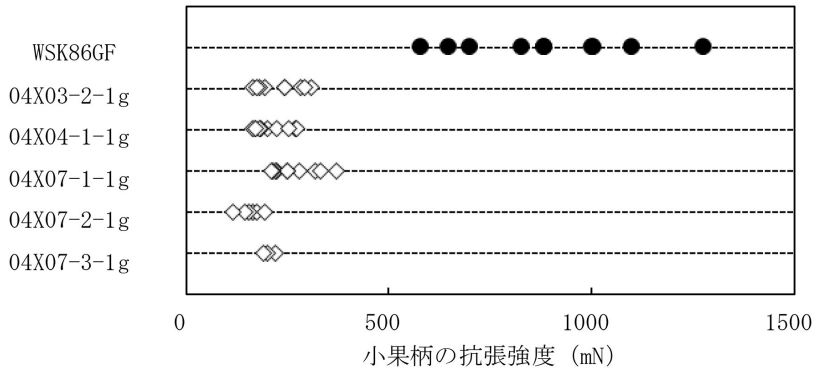
グリーンフラワー・長柱花×白花・等長柱花の組合せでは，「WSK86GF」の集団内にグリーンフラワーの形態変異が見られたため，複数の個体を交配に用いた。Ｆ$_1$では等長柱花と長柱花が出現したが，全ての個体が白花を有し，グリーンフラワーは劣性の形質であると考えられた。また，Ｆ$_2$世代の分離様式は，全ての組合せで白花:グリーンフラワー＝３：１に適合し(第Ⅱ－21表)，グリーンフラワーが劣性一遺伝子に支配されることが明らかになった。花型を考慮すると，分離様式は全ての組合せで，白花・等長柱花：グリーンフラワー・等長柱花：白花・長柱花:グリーンフラワー・長柱花＝９：３：３：１に適合し(第Ⅱ－21表)，グリーンフラワーの遺伝子座が*S*座とは独立していると考えられた。なお，Ｆ$_2$分離集団内のグリーンフラワー個体間にも，花弁の葉状部の大きさや緑色の濃淡などの形態変異が観察された。

小果柄の抗張強度を両親間で比較すると，グリーンフラワーの「WSK86GF」は，白花の自家和合性系統を明らかに上回り(第Ⅱ－10図)，グリーンフラワーの小果柄が機械的に強いとの既報(ALEKSEEVA

第Ⅱ－21表　グリーンフラワー・長柱花と白花・等長柱花との交配Ｆ$_2$世代における花型・花色の分離様式

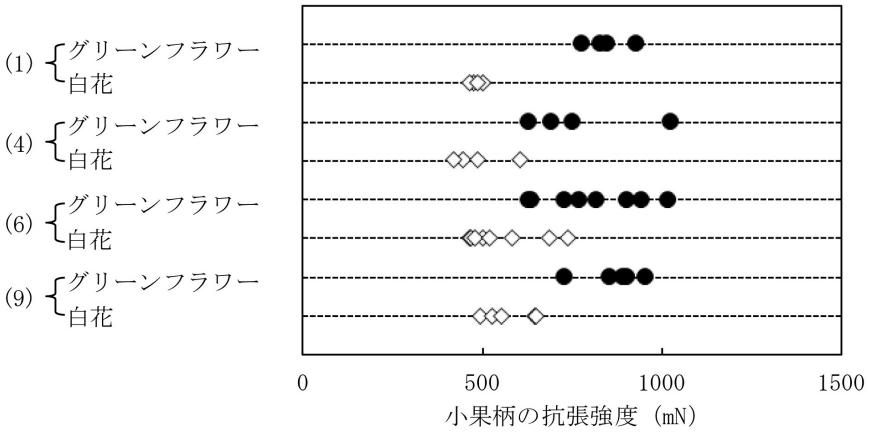
交配組合せ (長柱花 × 等長柱花)	F_1の個体数	観察個体数				χ^2値 W:G=3:1	P	χ^2値 9:3:3:1	P
		等長柱花		長柱花					
		W[1)]	G[2)]	W	G				
(1) WSK86GF-1 × 04X03-2-1g	2	31	15	12	7	2.71	0.10	3.62	0.31
(2) WSK86GF-2 × 04X03-2-1g	2	31	13	8	0	0.00	1.00	4.75	0.19
(3) WSK86GF-3 × 04X04-1-1g	3	46	17	13	4	0.07	0.80	0.76	0.86
(4) WSK86GF-4 × 04X04-1-1g	3	57	13	19	3	3.19	0.07	3.07	0.38
(5) WSK86GF-5 × 04X04-1-1g	6	148	55	47	20	1.11	0.29	1.32	0.73
(6) WSK86GF-6 × 04X04-1-1g	5	137	36	37	18	0.21	0.64	3.42	0.33
(7) WSK86GF-7 × 04X04-1-1g	7	98	35	26	11	0.38	0.53	1.46	0.69
(8) WSK86GF-8 × 04X04-1-1g	4	57	18	16	6	0.00	0.95	0.37	0.95
(9) WSK86GF-9 × 04X07-1-1g	3	72	21	15	7	0.03	0.87	2.84	0.42
(10) WSK86GF-10 × 04X07-2-1g	2	65	16	14	4	1.22	0.27	3.81	0.28
(11) WSK86GF-11 × 04X07-3-1g	2	29	10	14	4	0.01	0.94	1.42	0.70
(12) WSK86GF-12 × 04X07-3-1g	2	54	16	8	4	0.02	0.87	5.15	0.16

交配はグリーンフラワー・長柱花と白花・等長柱花の間で実施した。
[1)] W: 白花，[2)] G: グリーンフラワー



第Ⅱ－10図　グリーンフラワー・長柱花と白花・等長柱花との交配における両親系統の小果柄の抗張強度

「WSK86GF」はグリーンフラワー型の他殖性系統。「04X03-2-1g」,「04X04-1-1g」,「04X07-1-1g」,「04X07-2-1g」および「04X07-3-1g」は白花の自家和合性系統であり，親個体の自殖後代を測定に用いた。図中の各記号は１個体を示す。



第Ⅱ－11図　グリーンフラワー・長柱花と白花・等長柱花との交配Ｆ$_2$世代における小果柄の抗張強度

等長柱花個体のみを自殖させ，抗張強度を測定した。括弧内の数値は，第Ⅱ－21表の交配組合せ番号に相当する。図中の各記号は１個体を示す。

et al. 1988)とも一致した。ただし，「WSK86GF」の小果柄の抗張強度は集団内での変異が大きく，白花の自家和合性系統よりも変異幅が大きかった(第Ⅱ－10図)。また，Ｆ$_2$世代でも，グリーンフラワー個体は白花個体よりも小果柄の抗張強度が全般に強く(第Ⅱ－11図)，グリーンフラワー形質と小果柄が強いという形質は，互いに緊密な関係にあることが示唆された。なお，白花個体では小果柄の様々な部分での破断が観察されたが(OBA *et al.* 1998b)，グリーンフラワー個体の小果柄は，花房に着生する基部で破断する場合が多かった(ALEKSEEVA *et al.* 1988)。

(2)白花・長柱花とグリーンフラワー・等長柱花との交雑後代

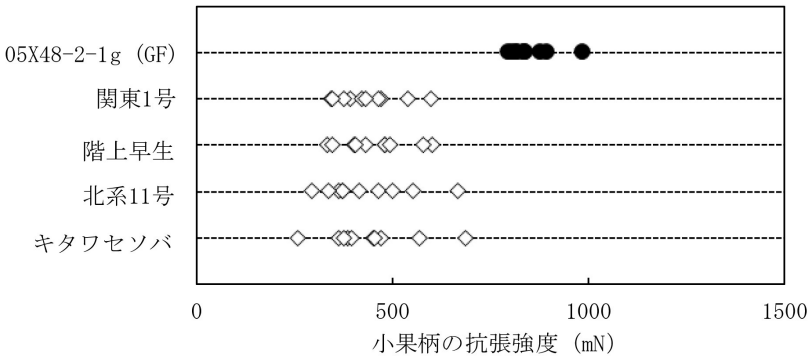
逆交配においても，Ｆ$_1$個体は全て白花であり，Ｆ$_2$世代での分離様式も白花・等長柱花：グリーンフラワー・等長柱花：白花・長柱花：グリーンフラワー・長柱花＝９：３：３：１の比にほぼ適合し(第Ⅱ－22表)，前述の結果と同様であった。また，花弁の葉状部の大きさや緑色の濃淡などのグリーンフラワーの形態変異もＦ$_2$分離集団内で観察され，何らかの修飾遺伝子が影響していることが推察された。

小果柄の抗張強度を両親間で比較すると，グリーンフラワーの「05X48-2-1g」は，白花の他殖性品種

第Ⅱ－22表　白花・長柱花とグリーンフラワー・等長柱花との交配Ｆ$_2$世代における花型・花色の分離様式

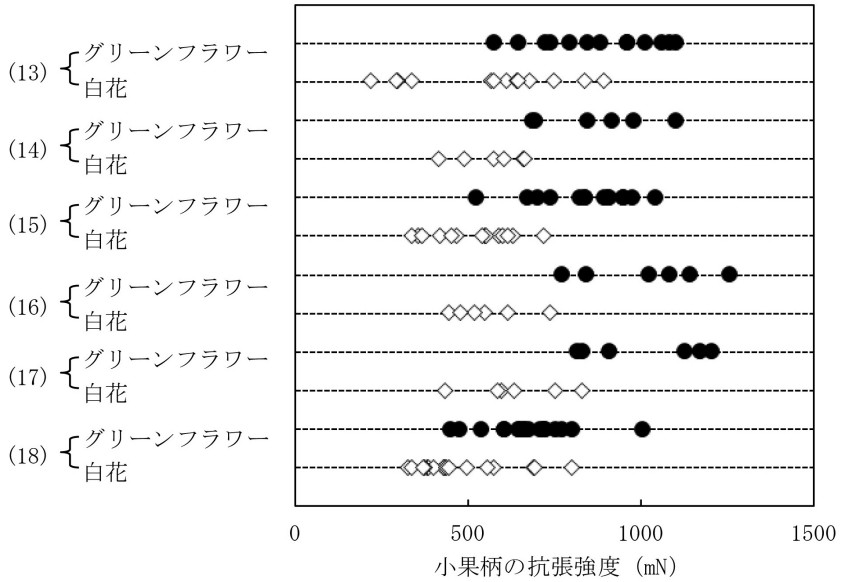
交配組合せ（長柱花　×　等長柱花）	F_1の個体数	観察個体数 等長柱花 W[1)]	等長柱花 G[2)]	長柱花 W	長柱花 G	χ^2値 W:G=3:1	P	χ^2値 9:3:3:1	P
(13) 関東1号-1 × 05X48-2-1g	3	64	24	19	4	0.00	0.95	1.92	0.58
(14) 階上早生-1 × 05X48-2-1g	6	97	36	26	17	2.45	0.12	5.07	0.17
(15) 階上早生-2 × 05X48-2-1g	2	53	13	7	1	1.46	0.23	9.41	0.02*
(16) 北系11号-1 × 05X48-2-1g	1	19	9	5	5	2.84	0.09	4.29	0.23
(17) 北系11号-2 × 05X48-2-1g	3	57	19	21	7	0.00	1.00	0.21	0.97
(18) キタワセソバ-1 × 05X48-2-1g	7	197	69	73	16	0.21	0.64	2.47	0.48

交配は白花・長柱花とグリーンフラワー・等長柱花の間で実施した。
[1)] W: 白花, [2)] G: グリーンフラワー



第Ⅱ－12図　白花・長柱花とグリーンフラワー・等長柱花との交配における両親系統の小果柄の抗張強度

「05X48-2-1g」はグリーンフラワー型の自家和合性系統で,「関東１号」,「階上早生」,「北系11号」および「キタワセソバ」は，白花の他殖性品種。「05X48-2-1g」の測定には，親個体の自殖後代を利用した。図中の各記号は１個体を示す。



第Ⅱ－13図　白花・長柱花とグリーンフラワー・等長柱花との交配Ｆ$_2$世代における小果柄の抗張強度

等長柱花個体のみを自殖させ，抗張強度を測定した。括弧内の数値は，第Ⅱ－22表の交配組合せ番号に相当する。図中の各記号は１個体を示す。

を上回り（第Ⅱ－12図），グリーンフラワー系統の小果柄が強い傾向が伺えたが，抗張強度の変異幅は「WSK86GF」の場合とは異なり，グリーンフラワーの「05X48-2-1g」が白花の他殖性品種よりも小さかった。抗張強度の変異幅は，自家和合性系統よりも他殖性系統で大きい傾向にあることから（第Ⅱ－10図，第Ⅱ－12図），集団内の遺伝的なヘテロ性が影響したものと推察した。また，F_2世代においても，グリーンフラワー個体の小果柄の抗張強度は，白花個体よりも全般に強い傾向が見られ（第Ⅱ－13図），グリーンフラワー遺伝子の多面発現や小果柄強度を支配する遺伝子との強連鎖が推測された。ただし，交配番号 No.18の場合は例外的に，小果柄の抗張強度がグリーンフラワーと白花個体とで同程度であり，離層形成に関わる因子など，他の要因が小果柄強度に影響したものと推察した（第Ⅱ－13図）。

以上の結果から，グリーンフラワーは劣性一遺伝子に支配される単純な遺伝様式であり，難脱粒性に関係すると考えられる小果柄の抗張強度も，グリーンフラワー遺伝子の多面発現あるいは強連鎖の関係にあると考えられた。グリーンフラワーは特徴的な形態（第Ⅱ－８図）であるため選抜が容易で，難脱粒性の形態マーカーとして利用できる。ただし，交配番号 No.18の例の通り（第Ⅱ－13図），他の因子が小果柄の抗張強度に影響を及ぼす可能性があるため，最終的な難脱粒性の評価は不可欠である。また，達観では，グリーンフラワー個体の結実程度は白花個体よりも全般に劣り，育種的には収量性の点で課題が残ることが予想される。なお，ALEKSEEVA（1988）は，ウクライナでの品種比較試験において，グリーンフラワーの４倍体系統が標準品種の収量水準に達したと報告しており，育種方法によっては，難脱粒性の利点を生かしながら，高い収量性を実現できる可能性もある。

なお，本試験で供試した自家和合性系統の種子の大きさは，他殖性系統よりも全般に小さく，小果柄の抗張強度と小果柄の直径や種子の大きさとの関係を示す報告（OBA *et al.* 1999）から推察すると，種子の大きさが両親（第Ⅱ－10図，第Ⅱ－12図）やF_2分離個体（第Ⅱ－11図，第Ⅱ－13図）の小果柄の抗張強度に影響した可能性がある。また，小果柄の抗張強度が開花後日数によって変化するとの報告（OBA *et al.* 1998b）もあり，開花後日数を調査せずに成熟種子の小果柄の抗張強度を無作為に測定した本試験において，抗張強度の変異幅が大きかった要因の１つと考えられた。さらに，花房内の結実位置が小果柄の抗張強度に影響することも観察しており，厳密には，世代の進んだ自家和合性系統を供試の上で，測定時期や測定部位を揃える必要があると考えている。

Ⅲ．交雑を伴うダッタンソバの育種

１．温湯除雄を利用したダッタンソバの交配

ダッタンソバは花器が小さく人工交配が難しいため，これまで主に導入，純系分離，人為突然変異育種などの交雑を伴わない方法で育種が行われてきた。昨今の食に対する健康志向を背景として，品種改良へのニーズも高まっており，様々な要望に的確に応えるには，主要作物で行われている交雑育種を主体とする体系的な育種法を採用する必要がある。本節では，交雑育種体系を構築する上での技術上のネックである交配方法について，自家和合性ソバの温湯除雄法（六笠ら，2006b）を基本に検討を行い，ダッタンソバの実用的な温湯除雄法の開発を行った。

１）材料及び方法

（１）植物体の養成，温湯処理および人工授粉

ダッタンソバは，育苗ポット（Φ10.5cm）に１粒ずつ播種し，十分な花蕾が着生するまで温室内で養成した。温室は，室温28℃で窓が自動開閉して外気が流入する設定とし，冬期間は15℃以上に加温した。また，人工照明による日長調節は行わず，期間中は自然日長が9.5 ～ 15.5時間で推移していた。温湯処理には頂端の花房を利用し，不要な分枝や花房，頂端花房内の既に開花した花や結実種子は，処理前に全て取り除いた。温湯処理は午後に実施し，頂端花房を42 ～ 44℃に設定した恒温水槽（Thermal Robo TR-1A，アズワン社，水槽サイズ194×336×156 mm）に一定時間浸漬した後，翌朝に開花した花の萼に赤色の印を付けて調査対象とした。人工授粉は拡大鏡下で行い，赤色の印を付けた花の柱頭に，雄親から採取した葯を擦り付けて実施した。なお，温湯処理が自殖に及ぼす影響を調べる試験では，人工授粉は行わなかった。

（２）自殖に及ぼす温湯処理の温度と処理時間の影響

供試材料には，北海道の優良品種である「北海Ｔ８号」を用いた。2006年１月20日に育苗ポットに播

種して温室内で植物体を養成し，３月15日の午後２時～５時の間に温湯処理を実施した。予備試験の結果を基に，処理温度は42，43，44℃の３水準，処理時間は2.5，５，7.5，10分間の４水準に設定した。なお，恒温水槽の温度は，設定温度の－0.1℃～+0.5℃を上下しており，水槽の表示温度が正確であることを標準温度計で確認した。翌朝は人工授粉を行わず，温湯処理５日目における果皮の生長により着粒を判定し，処理花数に対する着粒程度(自殖程度)を調べた。

(３)温湯処理した花に人工授粉を行った場合の着粒程度

雌親には「北海Ｔ８号」，雄親には「北海T10号」(「北海Ｔ８号」を原品種とする突然変異系統)を供試材料として用いた。「北海T10号」は，品種特性として出芽直後の子葉が特徴的な濃赤色を呈し，「北海Ｔ８号」の緑色子葉とは明らかに異なる(第Ⅲ－１図)。2006年１月20日に育苗ポットに播種し，温室内で植物体を養成した後，３月23日に42℃，３月30日に43および44℃の温湯処理を実施した。処理時間は１分間刻みとし，42℃で６～10分間，43で４～６分間，44℃で３～４分間に設定した。温湯処理を施した植物体の半数は，翌日の午前10時～午後２時の間に人工授粉を行い，残りの半数は人工授粉を行わず，自殖に及ぼす影響を調査した。開花後５日目における果皮の生長から着粒の有無を判定し，人工授粉の有無による着粒程度から判断して，最適な処理温度と処理時間を選択した。



第Ⅲ－１図　ダッタンソバの子葉

(１)「北海Ｔ８号」，(２)「北海T10号」，(３)「北海Ｔ８号」×「北海T10号」のF_1個体

最適処理条件における結実種子は，果皮が成熟色(褐色)に変わった時点で収穫し，粒数を数えた。休眠覚醒のために約１ヶ月間室温に放置後，育苗ポットに１粒ずつ播種して，出芽直後の子葉色を調査した。以降，温室内で植物体を養成し，成熟期にF_1個体ごとにF_2種子を収穫した。F_2世代は，プランターに播種して，F_2集団ごとに少なくとも35個体の子葉色を調べ，形質の分離を判定した。なお，対照区として，雌親である「北海Ｔ８号」の自殖後代S_1およびS_2世代の子葉色を調査した。

(４)温湯除雄法の他の品種への適用性

「北海T10号」，「石ソバ」，「尖嘴苦蕎」，「ユーゴスラビア産」，「北系６号」，「北系７号」，「北系８号」の７品種・系統について，44℃・３分間の温湯処理を実施した。前者の4品種・系統は，2006年３月27日に播種し，品種の早晩生に応じて「北海T10号」，「石ソバ」，「ユーゴスラビア産」は５月15日，「尖嘴苦蕎」は５月25日に温湯処理を行った。残りの３系統は，2006年６月12日に播種し，「北系６号」は７月31日，「北系７号」は８月１日，「北系８号」は８月２日に温湯処理を実施した。温湯処理を施した植物体の半数には，雄親として「北海Ｔ８号」を用い，上記の方法で人工授粉を行った。開花後５日目における果皮の生長により着粒を判定した後，約１ヶ月後に結実種子を収穫して，人工授粉の有無による結実の違いを調査した。なお，後代の雑種性の確認のために，「北海T10号」の人工授粉区で得られた種子を播種し，出芽直後の子葉色を調べた。

２)　結果と考察

(１)温湯処理したダッタンソバの開花と自殖

温湯処理の処理温度が高すぎる，または，処理時間が長すぎる場合，翌日の開花は抑制され，43℃･7.5分間または44℃・５分間で温湯処理した蕾は，わずかに開花したのみであった(第Ⅲ－１表)。さらに，43℃・10分間または44℃・7.5分間以上で処理した蕾はほとんど開花せず，極端な場合，その後の茎の伸長も阻害された(データ略)。42℃・10分間以下，

43℃・５分間以下または44℃・2.5分間の温湯処理の場合，無処理と比較して開花時間の遅れが見られるものの，翌日には十分に開花し，人工授粉には支障がないと判断した。

温湯処理した植物体の自殖による着粒は，全ての処理条件で無処理よりも少なかった。特に，42℃・7.5分間以上，43℃・５分間以上，44℃・５分間の処理では，自殖による着粒は観察されなかった(第Ⅲ－１表)。処理時間に伴う着粒の減少程度から判断すると，自殖による着粒が無くなる条件は，42℃・６分間，43℃・４分間，44℃・３分間付近であると推測された。このため，以下の試験では，温湯処理条件の確定のために１分間刻みに処理時間を設定し，42℃・６～10分間，43℃・４～６分間，44℃・３～４分間の温湯処理を行うと共に，人工授粉区と無授粉区を設け，雌性器官の生殖能力の評価を実施した。

(２)温湯処理をした花に人工授粉を行った場合の着粒程度

ダッタンソバの開花は，温湯処理により全般に抑制され，処理温度が高すぎる，または，処理時間が長すぎる場合には，不完全な開花も見られた。開花が不十分な場合には，ピンセットで強制的に花を開いて人工授粉を行ったが，作業はさほど困難ではなかった。

人工授粉を行わない場合，42℃・８分間以上，43℃・５分間以上，44℃・３分間の処理において，自殖での着粒がほぼ無くなった(第Ⅲ－２表)。これらの結果は，上記の結果(第Ⅲ－１表)とも一致しており，自殖による結実を概ね回避するための条件と考えられた。

人工授粉区は無授粉区よりも着粒が多いものの，着粒率は全般に低く(第Ⅲ－２表)，処理時間が長いと着粒が減少し，42℃・９分間以上の処理では人工授粉を行っても着粒しなくなった。このことから，雌性器官の熱に対する耐性は，雄性器官よりも少し高い程度であり，生殖能力を維持するためには，温湯処理をできる限り短時間で行う必要があると考えられた。自殖を回避するための最低条件で温湯処理した場合，人工授粉区での着粒率は，42℃・８分間で5.2％，43℃・５分間で12.1％，44℃・３分間で55.1％であった(第Ⅲ－２表)。いずれの処理条件も無処理区の着粒率(75.4％)よりは低かったが，44℃・３分間の処理における55.1％の着粒率は，実用的に十分な水準であり，温湯除雄法としては44℃・３分間の条件を採用した。

44℃・３分間の温湯処理と人工授粉で得られた結実種子は，「北海Ｔ８号」と「北海T10号」の雑種と考えられるため，「北海T10号」の濃赤色子葉の特性を利用して，後代の雑種性について推定した。得られた26粒の種子(第Ⅲ－２表)のうち，出芽したのは９個体のみであったが，出芽直後の子葉色は全て赤みを帯びた緑色であり，雌親である「北海Ｔ８号」の色調とは若干異なり，雑種であることが示唆された(第Ⅲ－３図)。なお，出芽率が低かった原因は，収穫後すぐに播種し，休眠覚醒が不十分であっ

第Ⅲ－１表　ダッタンソバ(品種「北海Ｔ８号」)の温湯処理後の自殖による着粒程度

温湯処理		処理	処理	着粒数	着粒率	備考
温度	時間	個体数	花数(a)	(b)[1)]	(b/a)(%)	(開花程度)
無処理		8	47	40	85.1	
42℃	2.5分間	8	64	51	79.7	
	5.0分間	8	53	6	11.3	
	7.5分間	8	51	0	0.0	
	10.0分間	8	42	0	0.0	
43℃	2.5分間	8	55	15	27.3	
	5.0分間	8	51	0	0.0	
	7.5分間	8	55	0	0.0	わずかに開花
44℃	2.5分間	8	56	2	3.6	
	5.0分間	8	65	0	0.0	わずかに開花

1) 開花後5日目における果皮の生長により判定した。

第Ⅲ－２表　ダッタンソバ(品種「北海Ｔ８号」)の温湯処理後の人工授粉の有無による結実程度

人工授粉	温湯処理 温度	温湯処理 時間	処理個体数	処理花数(a)	着粒数(b)[2]	結実数(c)	着粒率(b/a)(%)	結実率(c/a)(%)
	無処理①		7	73	63	−	86.3	−
なし	42℃	6分間	7	66	8	−	12.1	−
		7分間	7	63	4	−	6.3	−
		8分間	7	69	0	−	0.0	−
		9分間	7	53	0	−	0.0	−
		10分間	7	67	1	−	1.5	−
あり[1]	42℃	6分間	7	65	25	−	38.5	−
		7分間	7	58	10	−	17.2	−
		8分間	7	58	3	−	5.2	−
		9分間	7	56	0	−	0.0	−
		10分間	7	60	0	−	0.0	−
	無処理②		6	69	52	42	75.4	60.9
なし	43℃	4分間	6	49	5	−	10.2	−
		5分間	6	59	0	−	0.0	−
		6分間	6	57	0	−	0.0	−
あり[1]	43℃	4分間	6	48	8	−	16.7	−
		5分間	6	66	8	−	12.1	−
		6分間	6	73	5	−	6.8	−
なし	44℃	3分間	6	68	0	−	0.0	−
		4分間	6	64	0	−	0.0	−
あり[1]	44℃	3分間	6	69	38	26	55.1	37.7
		4分間	6	60	3	−	5.0	−

[1] 雄親；「北海T10号」
[2] 開花後5日目における果皮の生長により判定した。
− データなし

たためと考えられ(WANG and CAMPBELL, 2000)，同じ条件で播種した「北海Ｔ８号」の自殖種子でも，42粒の結実種子のうち出芽したのは23個体のみであった。後代の子葉色は，生長に伴い雌親の「北海Ｔ８号」と区別が付かなくなったため，雑種性を再確認するために，F_2世代における子葉色の分離を調査した。１個体のF_1に由来する９つのF_2集団を調べたが，全てにおいて子葉色に分離が見られ(第Ⅲ-3表)，出芽した個体の約１／４が濃赤色子葉であった。一方，「北海Ｔ８号」の自殖後代では，出芽した23個体のS_1は全て緑色子葉であり，また，S_2でも分離は見られなかった(第Ⅲ－３表)。

(３)本温湯除雄法の他品種への適用性

44℃・３分間の温湯処理は，供試した全ての品種・系統を効果的に除雄できた。温湯処理後に人工授粉を行わない場合，「北海 T10号」と「尖嘴苦蕎」において若干の着粒があったが，それ以外の系統では自殖による着粒は見られず，結実種子が得られたのは「尖嘴苦蕎」での１粒のみであった(第Ⅲ－４表)。また，人工授粉を行った場合，温湯処理した花の44.9 ～ 100％が着粒し，24.5 ～ 100％で結実種子が

第Ⅲ－３表　F_2世代またはS_2世代における子葉色の分離

処理	調査系統数[2]	F_2またはS_2における子葉色の分離の有無 あり	なし
「北海T8号」×「北海T10号」[1]	9	9	0
「北海T8号」（自殖）	23	0	23

[1] 44℃・3分間の温湯処理を実施後，人工授粉を行った。
[2] 1個体のF_1またはS_1植物体由来の系統。

第Ⅲ－４表　44℃・３分間の温湯除雄法の他品種・系統への適用性

品種・系統	人工授粉	処理個体数	処理花数(a)	着粒数(b)	結実数(c)	着粒率(b/a)(%)	結実率(c/a)(%)
北海T10号	なし	7	51	5	0	9.8	0.0
	あり	7	49	22	12	44.9	24.5
石ソバ	なし	7	33	0	0	0.0	0.0
	あり	7	31	28	16	90.3	51.6
尖嘴苦蕎	なし	6	23	3	1	13.0	4.3
	あり	6	27	27	27	100.0	100.0
ユーゴスラビア産	なし	7	33	0	0	0.0	0.0
	あり	7	31	22	20	71.0	64.5
北系6号	なし	7	19	0	0	0.0	0.0
	あり	7	20	19	14	95.0	70.0
北系7号	なし	8	32	0	0	0.0	0.0
	あり	8	33	30	29	90.9	87.9
北系8号	なし	7	44	0	0	0.0	0.0
	あり	7	43	36	35	83.7	81.4

[1)] 雄親：「北海T8号」

得られ(第Ⅲ－４表)，育種的な利用には十分な水準であると判断した。

前述の通り，「北海 T10号」の濃赤色子葉は劣性形質，「北海Ｔ８号」の緑色子葉は優性形質と推察されるため，交雑成否の確認は，「北海 T10号」×「北海Ｔ８号」の組合せのみにおいて，後代の子葉色を調べた。人工授粉区で得られた12粒の結実種子のうち10粒が出芽したが，全ての個体の子葉色は赤みを帯びた緑色であり，雌親である「北海 T10号」の濃赤色子葉とは明らかに異なり，雑種であることは容易に確認できた(第Ⅲ－５表)。

(４)実際の利用に向けての考察

本試験では，植物体を育苗ポット(Φ10.5 cm)に１個体ずつ養成し，自家花粉による汚染を回避するため，分枝をすべて切除した後に温湯処理を行った。分枝の剪定時には草丈１ｍほどに生長していたが，分枝は短く，蕾数も少なかった。植物体の形態から，全ての花房を一度に温湯に浸漬することが難しいため，取り扱いの容易さや蕾数の多さを考慮し，頂端花房のみを用いた。また，温湯処理する際には，茎を傷つけないよう，植物体を鉢ごと横に倒して最頂部を温湯に浸漬した。

本試験では，頂端花房を１度だけ温湯除雄する試

第Ⅲ－５表　後代の子葉色(F_1またはS_1)

処理	調査個体数	子葉色	
		赤みを帯びた緑色	濃赤色
「北海T10号」×「北海T8号」[1)]	10	10	0
「北海T10号」（自殖）	17	0	17

[1)] 44℃・3分間の温湯処理を実施後，人工授粉を行った。

験条件としたため，個体当たりの処理花数は全般的に少なかった(第Ⅲ－１，２，４表)。雌親１個体から多くのF_1種子を採る必要がある場合，いくつかの点で手法の改良を行う必要がある。第一に，温湯処理の時期を遅らせ，雌親の生育段階を進めて，頂端花房の蕾数を増加させることである。本試験では，比較的早い生育段階で温湯処理を実施したが，植物体の生育段階を遅らせても44℃・３分間の温湯処理が適用できることを確認している。第二に，44℃・３分間の温湯処理は，その後の植物体の生長にほとんど影響しないため，新たに分化してくる頂端花房の花蕾を温湯処理に繰り返し利用できる。実際に，１回の温湯処理・人工授粉で結実が得られなかった際，１週間程度の間隔をおいて再度の温湯処理・人工授粉を行い，雑種種子が得られている。ただし，既に着粒した種子の生長に及ぼす温湯処理の影響は未調査であるため，同一花房へ繰り返し温湯処理を行うことについては更に検討の余地がある。第三に，分枝の生育が盛んで温湯処理を行うために十分な長さと花数が確保できる場合には，分枝に着生する花房を温湯処理に利用できる。主茎を剪定して分枝の伸張を促し，分枝に着生する花房を温湯除雄に利用した場合にも，問題なく雑種種子が得られることを既に確認している。第四に，より大型のポットを用いて植物体を養成することで生長を促し，蕾数を増やすことができるであろう。採種用にF_1植物体を養成する際には，なるべく多くのF_2種子を採種するために大型のポットを用いており，交配親の養成に利用した育苗ポットの大きさ(Φ10.5cm)は，ダッタンソバの植物体には若干小さかったと考えられる。

本試験では，44℃・３分間の温湯処理を実用的な除雄法としたが，この方法は完全ではなく，「北海T10号」で9.8％，「尖嘴苦蕎」で13.0％の自殖による着粒が見られ，結実種子も１粒あった(第Ⅲ－４表)。温湯処理時の熱に対する耐性には，ダッタンソバの品種や個体間で多少の違いがあることを経験しており，44℃・３分間の温湯処理は，その後の植物体の生長にはほとんど影響がないものの，個体によってはかなりの開花遅延が見られる場合もあった。一方，自殖を完全に回避するには，処理時間を数10秒間ほど延長する必要があると考えられるが，この場合，雌性器官へのダメージにより，人工授粉後の結実率が低くなる危険性がある(第Ⅲ－２表)。実際の育種での利用では，殻の色，子実の形態，成熟期などの諸形質について，F_1植物と雌親との特性比較を十分に行い，自殖後代を適切に排除すると共に，F_1では判断が難しい場合，F_2集団での形質分離を観察し，適切な選抜を行うことが望ましいと考えられる。

結論的には，ダッタンソバは44℃・３分間の温湯処理により除雄が可能であり，人工授粉によって容易に雑種種子を得る技術が開発できた。少量の自殖種子が残る場合もあるが，手法自体は簡便で労力や時間をあまり要せず，育種的な利用では実用性が高いと判断している。なお，ダッタンソバの開花や結実は高温によって抑制されるため，植物体を養成する際の注意点として，温室内の気温を概ね30℃以下に維持する必要があると考えている。

２．易脱ぷ性ダッタンソバの遺伝解析

易脱ぷ性ダッタンソバは，縦方向に３つの割れ目を有する非固着性のそば殻(植物学上の果皮)を持ち，子実を指で擦るだけで簡単に脱ぷができる。しかし，栽培地域がネパール，ブータン，中国南部などに限られ，交雑育種における遺伝資源としての有用性も明確ではなく，知見は極めて限られている。本節では，温湯除雄法を利用して通常のダッタンソバとの交雑親和性を調べると共に，非固着性のそば殻と極晩生との形質間相関について遺伝学的な調査を行った。

１） 材料および方法

(１)供試材料，交配および後代の調査

供試材料の易脱ぷ性ダッタンソバ(以下，「RT」)は，京都大学より分譲された遺伝資源であり，種子が小さくて非固着性の黒いそば殻を有し，北海道で栽培すると栄養生長が旺盛すぎるため，収量性が極めて低い(Wang and Campbell，2007b)。一方の親に用いた「北海Ｔ８号」は，旧ソ連より導入した「Rotundatum」から純系分離で育成された北海道の優良品種で，固着性で褐色のそば殻を有し，夏型の生態型で多収である。

「RT」と「北海Ｔ８号」との正逆交配を行うため，早晩生を考慮し，「RT」を2006年３月１日，「北海Ｔ８号」を３月27日に育苗ポットに播種して，十分な蕾数が確保できるまで温室内で養成した。なお，温室は15℃を下回らないように５月中旬まで加温し，人工照明による日長調整は行わなかった。温湯

除雄は前節の方法に従い，処理条件を44℃・３分間とした。「RT」×「北海Ｔ８号」の交配（交配番号06T06）は５月10日，逆交配（交配番号06T07）は５月16日に実施し，人工授粉後25日目頃に成熟した種子を収穫して，35℃に設定した乾燥器内で数日間乾燥した。

F_1種子は７月５日にポットに播種し，成熟期まで温室内で養成した後，10月19日にF_1個体ごとにF_2種子を収穫した。F_1個体由来の２つのF_2集団（06T06-1および06T07-1）は，2006年12月に温室内のプランター（60×60cm）に播種し，他のF_2集団は2007年６月６日に北海道農業研究センター芽室研究拠点の試験圃場（北緯42度53分，東経143度４分）に播種して，形質の分離を調査した。なお，圃場試験では基肥としてN1.8，P_2O_5 7.2，K_2O 4.2 g/㎡を作条に施用し，畦間60cm，１畦内に５cm 間隔の２条植え，株間５cm とした。また，生育期間中に支柱を設置し，過繁茂による倒伏を防止した。各個体の主茎に着生する子実の約90％が成熟色に変わった時点を成熟期とみなし，８月28日から10月９日まで７日間隔で個体ごとに収穫しながら成熟期の調査を実施した。霜害により調査困難となった10月16日には，圃場に残った全個体の収穫を行った。収穫個体は，そば殻の特性（固着性－非固着性）とそば殻の色（黒－茶）により４区分に分類すると共に，出現頻度についてχ^2検定を行い，期待頻度に対する実測値の適合性を検証した。なお，圃場試験期間中の日長は，概ね11 ～ 15.5時間の長日条件で推移した。

2007年の圃場試験では，温室栽培した06T06-1および06T07-1に由来するF_3系統も上記と同じ条件で栽培し，特性評価として，成熟期，そば殻の色，千粒重を調査した。

（２）易脱ぷ性を有する後代と通常のダッタンソバとの交配における交雑親和性の調査

非固着性のそば殻を有するF_2またはF_3個体と，固着性のそば殻を有する通常のダッタンソバ（「北海Ｔ８号」，「ユーゴスラビア産」，「Rotundatum」および「IRBFT-41」）との交配を実施した。植物体は温室内で養成し，温湯処理により除雄した後，2007年３月15日，５月２日および５月９日に人工授粉を行った。交雑親和性について，授粉花数に対する結実種子数の割合を算出して評価した。

２）結果と考察

（１）易脱ぷ性ダッタンソバと通常のダッタンソバの交雑親和性

「RT」×「北海Ｔ８号」の組合せでは６粒，逆交配では17粒の結実種子が得られ，既報（Wang and Campbell，2007b）のような交配の困難さはなかった。正確な交配花数を把握しなかったため，交配の成功率は算出できていないが，正逆交配とも授粉花数の概ね半数が結実し，交雑親和性には問題がないと判断した（Musaka *et al.* 2007b）。なお，後代の雑種性は，F_2世代での形質の分離を調べた以下の試験において，全てが雑種であったことを確認している。また，易脱ぷ性のF_2またはF_3個体と通常のダッタンソバとの正逆交配においても，平均すると交配花数の50％以上で結実が得られ（第Ⅲ－６表），後代の雑種性も確認できた。

Wang and Campbell（2007b）は，易脱ぷ性ダッタンソバと通常のダッタンソバとの交雑の成功事例を初めて報告したが，同時に，交雑の困難さも指摘しており，交配後代と通常のダッタンソバとの戻し交雑にも失敗している。本研究では，温湯除雄法を用いることにより，易脱ぷ性のダッタンソバ（「RT」）と通常のダッタンソバ（「北海Ｔ８号」）との交雑は容易であり，戻し交雑でも何らの支障もなかった。これまでに，ピンセットで除雄する際の花器への物理的な損傷が結実に悪影響を及ぼすことを経験しており，Wang and Campbell（2007b）の報告する交雑の困難さは，交雑不親和によるものではなく，交配技術が未確立であったことが原因と考えられた。ダッタンソバの交雑育種は，世界的にもほとんど取り組まれていないが（Wang and Campbell, 2007b），温湯除雄技術の確立により，今後は主要な育種方法になり得ると考えている。

（２）非固着性そば殻の遺伝およびそば殻の固着性とそば殻の色，早晩生との形質間相関

F_1養成では，「RT」×「北海Ｔ８号」の交配組合せから２つのF_2集団（06T06-1と06T06-2），逆交配から10のF_2集団（06T07-1 ～ 06T07-10）が得られ，残りは未発芽や苗立枯病により枯死した。F_1個体（F_2種子）のそば殻特性は，正逆交配とも黒色・固着性であり，非固着性と褐色の形質は，それぞれ固着性と黒色に対して遺伝的に劣性であった。

F_2個体（F_3種子）でのそば殻形質の分離様式は，

第Ⅲ－６表　ダッタンソバと易脱ぷ性ダッタンソバの交雑親和性

雌親	雄親	交配花数 (a)	結実数 (b)	結実率 (b/a) (%)
ダッタンソバ × 易脱ぷ性ダッタンソバ				
北海T8号	06T06-1-4g	15	5	33.3
北海T8号	06T06-1-5g	14	12	85.7
北海T8号	06T06-1-6g	10	4	40.0
北海T8号	06T06-1-7g	4	3	75.0
小計		43	24	55.8
易脱ぷ性ダッタンソバ × ダッタンソバ				
06T07-1-1g-1g	北海T8号	9	5	55.6
06T07-1-1g-2g	北海T8号	8	4	50.0
06T07-1-1g-3g	ユーゴスラビア産	8	3	37.5
06T07-1-1g-4g	ユーゴスラビア産	6	5	83.3
06T07-1-1g-5g	Rotundatum	8	6	75.0
06T07-1-1g-6g	Rotundatum	9	4	44.4
06T07-1-1g-7g	IRBFT-41	6	5	83.3
06T07-1-1g-8g	IRBFT-41	9	7	77.8
06T07-1-1g-9g	IRBFT-41	9	4	44.4
06T07-1-1g-10g	IRBFT-41	6	4	66.7
小計		78	47	60.3
総計		121	71	58.7

交配は，温湯除雄を行った後に人工授粉した。

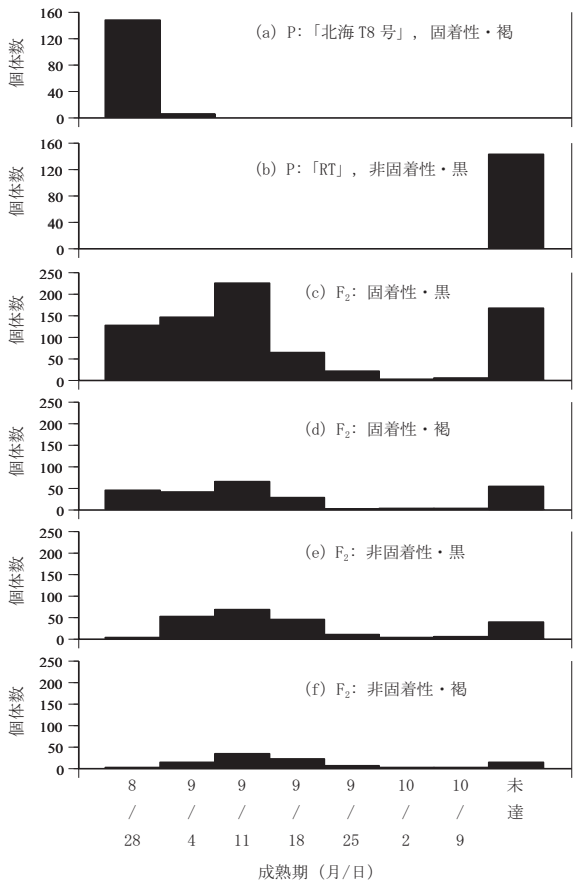
固着性：非固着性＝３：１，また，黒色：褐色＝３：１に適合し，非固着性および褐色そば殻の形質が，それぞれ劣性一遺伝子に支配されることを示していた(第Ⅲ－７表)。また，二遺伝子モデルでの分離様式は，[固着性・黒色]：[固着性・褐色]：[非固着性・黒色]：[非固着性・褐色]＝９：３：３：１に適合し，非固着性とそば殻の色は，互いに独立した形質であることを示していた(第Ⅲ－７表)。

第Ⅲ-2図には，「北海Ｔ８号」×「RT」の組合せ(06T07-2 ～ 06T07-10の総計)のF_2集団における成熟期の分布を，そば殻の特性に応じて［固着性／黒色]，[固着性／褐色]，[非固着性／黒色]，[非固着性／褐色］の４つに区分して示したが，分布パターンはいずれもほぼ同様の傾向であった。また，成熟期に達しなかった極晩生個体は，[固着性・黒色]：[固着性・褐色]：[非固着性・黒色]：[非固着性・褐色]＝９：３：３：１の比率で観察され，非固着性そば殻の形質と極晩生とは基本的に独立しており，早生・易脱ぷ性の系統の作出は，単交配でも比較的容易にできると考えられた。一方，ヒストグラムにおける第１番目の成熟期ピークを見ると(第Ⅲ－２図)，非固着性のそば殻を有するF_2個体の方が，固着性のそば殻を有するものよりもやや晩生の傾向があり，黒色・褐色のいずれのそば殻でもほぼ同様であった。これは恐らく，非固着性のそば殻を有する個体と固着性のそば殻を有する個体の結実程度の違いに起因すると考えられ，圃場試験では，非固着性のそば殻を有する個体の結実が劣ることを観察している。つまり，生殖生長と栄養生長が並行して進むダッタンソバでは，結実の悪さが栄養生長を促し，結果として成熟をやや遅らせたものと推察した。

F_3系統は，非固着性のそば殻を有するF_2個体から養成したたが，全てが非固着性のそば殻を有し，劣性一遺伝子支配の仮説に符合していた。冬期間に温室内でF_2世代を養成したため，早晩生の選抜を実施していなかったが，F_3世代では，早霜前に成熟できる系統が多く得られた(第Ⅲ－８表)。９月12日に収穫したF_3系統の成熟は，系統内でかなり斉一であり，早霜以前に成熟する易脱ぷ性ダッタンソバの育成は比較的容易と考えられた。なお，当地での早霜日の平年値は10月８日であり，年次変動があるものの，９月上旬に霜が降りることはまずない。

第Ⅲ－７表　F_2世代におけるそば殻の固着性（固着性－非固着性）とそば殻の色（黒－褐）の分離様式

F_2集団	個体数				χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
そば殻の特性	固着性		非固着性		固着性		色			
そば殻の色	黒	褐	黒	褐	3：1		3:1		9:3:3:1	
「RT」×「北海T8号」										
06T06-1	55	22	16	5	0.67	0.41	0.34	0.56	1.23	0.75
06T06-2	166	56	47	21	0.37	0.54	0.37	0.54	1.56	0.67
合計	221	78	63	26	0.88	0.35	0.67	0.41	1.85	0.60
「北海T8号」×「RT」										
06T07-1	36	17	11	0	2.08	0.15	0.08	0.77	6.17	0.10
06T07-2	90	24	23	10	0.51	0.48	0.27	0.60	1.93	0.59
06T07-3	93	31	24	6	2.50	0.11	0.08	0.78	2.81	0.42
06T07-4	87	31	25	11	0.22	0.64	0.42	0.51	0.87	0.83
06T07-5	84	25	29	11	0.27	0.60	0.06	0.81	0.66	0.88
06T07-6	89	31	20	14	0.70	0.40	1.46	0.22	4.94	0.18
06T07-7	96	26	23	13	0.41	0.52	0.01	0.92	3.49	0.32
06T07-8	86	26	33	10	0.62	0.43	0.62	0.43	0.88	0.83
06T07-9	84	26	24	10	0.15	0.70	0.00	1.00	0.59	0.90
06T07-10	40	13	16	3	0.07	0.79	0.30	0.59	0.99	0.80
合計	785	250	228	88	0.11	0.74	0.00	0.99	3.55	0.31



第Ⅲ－２図　「北海T８号」（a）と「RT」（b）との交配F_2集団の成熟期のヒストグラム

F_2個体は，そば殻の特性によって以下の４区分に分類した。固着性・黒（c），固着性・褐（d），非固着性・黒（e），非固着性・褐（f）。「未達」は，霜に遭遇したため，成熟期に達しなかった。

第Ⅲ－８表　非固着性のそば殻を有するF_3系統の特性

品種・系統	成熟期	そば殻の色	千粒重（g）
両親			
RT	達せず	黒	9.96
北海T8号	8月27日	褐	19.23
「RT」×「北海T8号」の後代			
06T06-1-1g	9月12日	黒	10.77
06T06-1-2g	9月18日	黒	10.45
06T06-1-3g	達せず	褐	10.88
06T06-1-4g	9月25日	褐	12.46
06T06-1-5g	達せず	褐	10.53
06T06-1-6g	9月25日	黒と褐	11.32
06T06-1-7g	9月12日	黒と褐	11.23
06T06-1-8g	9月12日	褐	11.82
06T06-1-9g	達せず	褐	10.56
06T06-1-10g	9月18日	黒と褐	10.92
06T06-1-11g	9月28日	黒と褐	9.14
「北海T8号」×「RT」の後代			
06T07-1-1g	9月12日	黒	11.55
06T07-1-2g	9月12日	黒と褐	11.94
06T07-1-3g	9月12日	黒と褐	11.69
06T07-1-4g	達せず	黒と褐	10.42

結論的には，通常のダッタンソバとの交雑親和性，非固着性のそば殻と極晩生との形質間の独立性などの観点から，易脱ぷ性ダッタンソバは交雑育種において有用な遺伝資源と考えられた。今後，非固着性のそば殻形質の導入により，ダッタンソバの抜き実利用が容易になり，加工利用面での新たな開発に繋がることがと期待される。

３．易脱ぷ性ダッタンソバの抜き実の加工利用によるルチン分解酵素作用の回避

ダッタンソバは，子実中に黄色いフラボノイドであるルチンを多量に蓄積するが，同時に高いルチン分解活性を有しており，そば粉への加水と同時に酵素が働き，ルチンが急速に分解する。ルチン分解酵素(フラボノール - 3 - グルコシダーゼ，f3g)は主に種皮，ルチンは胚に存在し(SUZUKI *et al.* 2002)，抜き実中では物理的に離れた状態にあるため，製粉せずに抜き実のままで加熱調理することにより，ルチンの分解を回避できる可能性がある。本研究では，易脱ぷ性ダッタンソバの抜き実，挽き割りおよびそば粉への加水に伴うルチン分解について調べるとともに，加熱調理を想定して，抜き実中のルチンの熱に対する耐性を調査した。

１） 材料と方法

(１)加水に伴うルチンとケルセチン含量の変化

供試材料には，易脱ぷ性ダッタンソバ系統(06TR07-1-1g-0)の種子を用い，サンプル形状として抜き実，挽き割り，そば粉の３種類を用意した。抜き実は，子実のそば殻を手で取り除いて作製し，それを1.5mm のロール間隙を通して粗く砕き，挽き割りとした(第Ⅲ－３図)。そば粉は，小型の粉砕機(ミルサー IFM-300DG，イワタニ社，日本)により抜き実を粉砕して作製した。

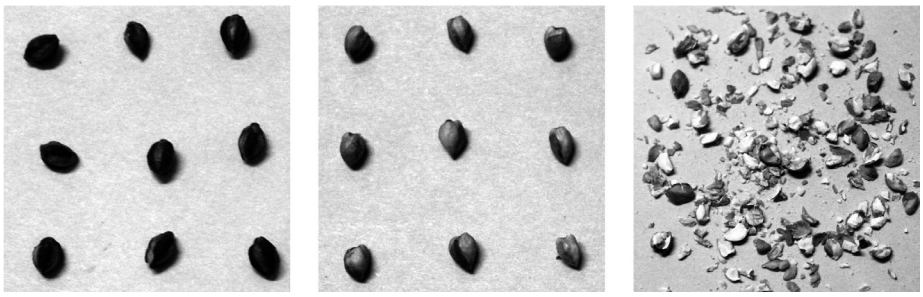
サンプルへの加水は試験管内で実施し，各サンプル200mg を秤量して0.5mL の蒸留水を加え，数秒間ボルテックスで撹拌した。加水後，そば粉サンプルは０，10，20および30分間，抜き実と挽き割りサンプルは０，１，２，４，８および24時間，室温条件に放置して内生の酵素によるルチン分解反応を促した。設定時間が経過した試験管には，ルチンとケルセチンの抽出のために５mL のメタノール(濃度1.1％（v/v)のリン酸水溶液を１％含有)を加え，ホモジェナイザー（Ultra-Turrax T8，Ika-Werke 社，ドイツ)の最高速度で約30秒間粉砕した後，密栓して37℃に設定した保温庫に３時間放置した。上清の一部を0.5μm PTFE フィルターユニットで濾過した後，ODS カラム(Capcell PAK C18 MG S5，4.6 mm φ×250mm；資生堂社，日本)を用いて高速液体クロマトグラフ(HPLC)で分析した。HPLC の移動相には，メタノール：アセトニトリル：0.1％（v/v)リン酸＝50：35：15の混合液を用い，流量１mL/min のアイソクラティックモードとし，カラムオーブンは40℃に設定した。UV-VIS 検出器により360nm の波長でルチンとケルセチンを検出し，外部標準法で定量した(SUZUKI *et al.* 2007)。なお，各サンプルの抽出と定量は４反復実施した。

一方，そば粉サンプルの一部を105℃に設定した乾燥器内で３時間乾燥して含水率を求め，抜き実，挽き割り，そば粉サンプルに共通の値として，乾物あたりのルチンやケルセチン含有率を計算する際に用いた。

(２)抜き実の水抽出液におけるフラボノイド -3-グルコシダーゼ(f3g)活性

系統番号06TR07-1-1g-0の易脱ぷ性ダッタンソバを供試材料とし，１g の抜き実と５mL の蒸留水を試験管に入れてボルテックスで数秒間撹拌し，２時間放置して再び数秒間撹拌した後，3000× g で10分間遠心分離して，上清を f3g 活性の測定に用いた。

ルチン分解活性は，室温での食品加工を想定して，緩衝液を用いずに25℃条件下で測定した。１％(w/v)のルチンを含有する50μL のメタノール，180μL の蒸留水，20μL の抜き実の水抽出液から成る混



(a)種子　　(b)抜き実　　(c)挽き割り

第Ⅲ－３図　易脱ぷ性ダッタンソバの写真

合液を反応系とし，10分間の反応時間の後，２ｍＬのメタノールを加えて反応停止を行った。反応前後のルチンとケルセチン含量を前述の条件で定量し，活性値を算出した。なお，測定は４反復実施した。

（３）抜き実の水抽出液または蒸留水に胚を浸漬した時のルチンおよびケルセチン含量の変化

供試材料として系統番号06TR07-1-1g-0の抜き実を用い，蒸留水に短時間浸漬して柔らかくした後，ピンセットで種皮と外胚乳を取り除いて無傷の胚を取り出した。胚は，試験管内で風乾した後，以下の4種類の処理を施した。(1) 無傷の胚のまま，前述のルチン分解活性の測定に用いた抜き実の水抽出液に浸漬（処理区 II），(2) 胚をガラス棒で粉砕した後，抜き実の水抽出液に浸漬（処理区 CI），(3) 無傷の胚のまま，蒸留水に浸漬（処理区 IW），(4) 胚をガラス棒で粉砕した後，蒸留水に浸漬（処理区 CW）。いずれの処理区とも，１つの胚を200μＬの抜き実の水抽出液または蒸留水に浸漬し，25℃で２時間放置した後，2 mL のメタノールを加えて反応を止め，ルチンおよびケルセチンを抽出した。前述と同様にホモジェナイザーで粉砕した後，密栓して37℃に設定した保温庫に３時間放置し，上清を濾過してHPLC によりルチンとケルセチンの定量を行った。なお，測定は各４反復実施した。

（４）沸騰水中で抜き実を煮沸した場合のルチン分解

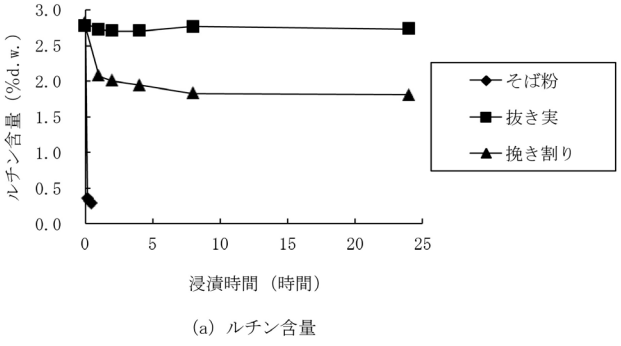
系統番号06TR07-1-4g-0の抜き実200mg と蒸留水0.5mL を試験管に入れ，ボルテックスで数秒間撹拌した後，室温で２時間放置して抜き実を吸水させた。試験管を密栓して沸騰水中に入れ，0，0.5，1，1.5，２時間加熱した後，５ml のメタノール（濃度1.1％(v/v)のリン酸水溶液を１％含有）を加えてルチンの抽出を行った。定量は，前述と同様の抽出操作を行った上で HPLC により行った。なお，測定は４反復実施した。

２） 結果と考察

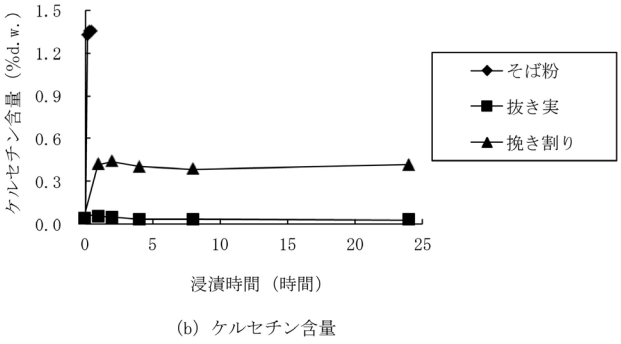
通常のダッタンソバは固着する堅い殻を有し，そば殻ごとの製粉を余儀なくされるため，殻の破片の混入によるそば粉品質の低下が不可避である。一方，易脱ぷ性ダッタンソバは，指で子実を擦るだけで容易に殻を剥くことが可能で（Wang and Campbell, 2007b），製粉前の殻の除去により，殻の混入によるそば粉品質の低下を回避できる。また，抜き実のままの加工利用が可能なため，新たな食品の開発が期待できる。

（１）加水に伴うルチンとケルセチン含量の変化

ダッタンソバの製麺工程における問題の一つにはルチンの分解があり，ルチンを高含有する麺製品を製造するには，内生のルチン分解酵素を失活させるための熱処理を事前に行う必要がある（有田ら，1998）。本実験でも，そば粉サンプルでは加水後10分間で87.5％のルチンが消失し，挽き割りサンプルでは水に浸漬後24時間の時点で約１／３のルチンが消失しており（第Ⅲ－４図），易脱ぷ性ダッタンソバの抜き実にも内生のルチン分解酵素が存在すると考えられた。ルチンの減少に伴いケルセチンの増加も見られ，ケルセチンの増加量がルチンの減少量の約半分であったことから判断すると（第Ⅲ－４図），ルチンは主に f3g の働きによって，ケルセチンとルチノースに分解したものと考えられた（Suzuki *et al.* 2002；安田ら，1992）。なお，ルチンは分子量610.52，ケルセチンは分子量302.24であり，理論的には，１mg のルチンから0.495mg のケルセチンが



(a) ルチン含量



(b) ケルセチン含量

第Ⅲ－４図　易脱ぷ性ダッタンソバのそば粉，抜き実，挽き割りに加水した場合のルチン含量（a）とケルセチン含量（b）の変化

生じる。

一方，抜き実のまま水に浸漬した場合には，24時間経過してもルチン含量は安定して高い状態を保ったままであり，ケルセチンの増加も観察されなかった(図Ⅲ－４図)。このことは，f3g によるルチン分解には，子実が破壊されることが必要であり，抜き実のまま加工利用することにより，ルチン分解を回避できる可能性を示している。

(２)抜き実の水抽出液における f3g 活性

抜き実の水抽出液のルチン分解活性は，25℃条件において0.646mg/ml/min(17.64nkat/ml)であり(第Ⅲ－９表)，ルチンの減少とともにケルセチンの増加が見られた。このことは，抜き実に f3g が存在し，抜き実の破壊がなくても f3g が可溶化して，ルチンの分解活性が発現することを示している。測定された f3g 活性の水準では，計算上，１ml の抜き実の水抽出液が10分間で６mg のルチンを分解可能であり，この量は200mg の抜き実が有するルチンの量に相当する。このことから，抜き実のまま水に浸漬した場合にルチンの分解が見られなかった原因は，f3g の水溶性の低さではないと考えられた。

第Ⅲ－９表　抜き実ダッタンソバの粗抽出液におけるルチン分解およびケルセチン生成の活性

活性	mg/ml/min	nkat/ml
ルチン分解活性	0.646	17.64
ケルセチン生成活性	0.335	18.47

(３)抜き実の水抽出液または蒸留水に胚を浸漬した時のルチンおよびケルセチン含量の変化

無傷の胚を抜き実の水抽出液に浸漬した場合には(処理区 II)，ルチン含量が高く，ケルセチン含量が低い状態のままであったが，粉砕した胚を抜き実の水抽出液に浸漬した場合には(処理区 CI)，ルチン含量が低く，ケルセチン含量が高くなった(第Ⅲ－10表)。前述の通り，抜き実の水抽出液は高い f3g の活性を有しているが，胚のルチンが分解されたのは粉砕した場合のみであり，f3g によるルチンの分解は，粉砕に伴う細胞構造の破壊が引き金となり，ルチンが分解酵素に直接に曝されるために起こるものと推察された。一方，浸漬液を蒸留水にした場合にも傾向は全く同様であり，無傷の胚を蒸留水に浸漬した場合には(処理区 IW)，ルチン含量が高く，ケルセチン含量が低いままであり，粉砕した胚を蒸留水に浸漬した場合には(処理区 CW)，ルチン含量が低く，ケルセチン含量が高くなった(第Ⅲ－10表)。f3g の活性は，種皮よりも相対的に活性値が低いものの，胚でも見出されており(Suzuki *et al*. 2002)，胚自体に内生する f3g の働きによってルチンが分解したと考えられた。

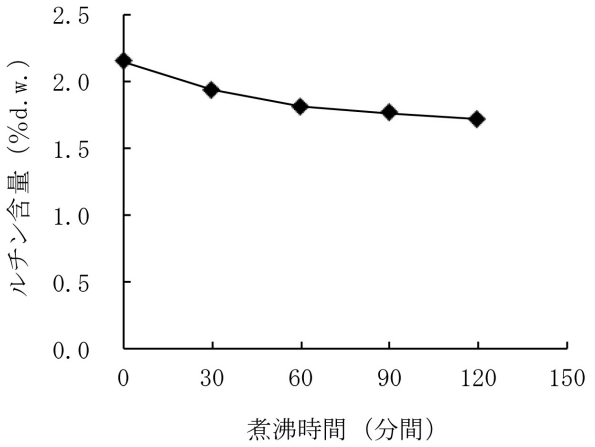
(４)沸騰水中で抜き実を煮沸した場合のルチン分解

ルチンの熱に対する安定性は，ダッタンソバの加工工程における重要な要素の１つと考えられる。本試験では，水煮による100℃程度の熱を想定したが，沸騰水中で30分間加熱した後も，約90％のルチンが残存し，120分間後でも約80％が残存していた(第Ⅲ－５図)。このことは，抜き実中のルチンは100℃程度の熱に対しては安定しており，水煮などの加熱調

第Ⅲ－10表　抜き実ダッタンソバの粗抽出液または蒸留水に浸漬した時の無傷または粉砕した胚に含まれるルチンおよびケルセチンの含量

処理	胚の形態	浸漬液	含量	
			ルチン (mg / 胚)	ケルセチン (mg / 胚)
II	無傷	抜き実の水抽出液	0.312 ±0.030	0.010 ±0.004
CI	破壊	抜き実の水抽出液	0.026 ±0.009	0.151 ±0.010
IW	無傷	蒸留水	0.279 ±0.021	0.012 ±0.002
CW	破壊	蒸留水	0.025 ±0.006	0.139 ±0.034

±SD



第Ⅲ－５図　易脱ぷ性ダッタンソバの抜き実を煮沸した時のルチン含量（乾物あたり）の変化

理中には減耗が少ないことを示している。煮沸によるルチンの減耗程度は，そば粉に加水した場合のルチンの急激な減少と比較するとかなり少なく，易脱ぷ性ダッタンソバを抜き実のまま加工利用することで，内生のf3gによるルチンの分解を回避でき，効果的なルチンの摂取に貢献できると考えられた。具体的には，カーシャやご飯への添加などの抜き実利用が想定される。

４．片側ダイアレル交配による突然変異由来の半矮性ダッタンソバの遺伝解析

ダッタンソバでは，耐倒伏性の向上は重要な育種目標であるが，既存の育種素材には耐倒伏性に優れるものがなく，突然変異育種による半矮性変異の作出が有望な手段の１つと考えられる。農業生物資源研究所放射線育種場では，これまでに，放射線照射後代より見出された変異体の中から，半矮性で耐倒伏性を有する変異系統を数点作出しており，本節では，これら人為突然変異によって得られたダッタンソバ半矮性系統の特性評価を行うとともに，各系統が有する半矮性遺伝子について，片側ダイアレル交配による遺伝解析を通じて，遺伝子座の異同を推定した。

１）材料および方法

（１）供試材料の育成経過と特性調査

半矮性変異を誘発した放射線の種類と線量，および原品種を第Ⅲ－11表に示した。1999年～2004年の間に，ダッタンソバ品種「Rotundatum」「Pontivy」および「北海Ｔ８号」の乾燥種子に対し，農業生物資源研究所放射線育種場のガンマールームでガンマ線，日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所のAVFサイクロトロンおよび理化学研究所のリングサイクロトロンで各種イオンビームを照射した。M_1個体からM_2種子を個体別に採種し，M_2世代で耐倒伏性を有する半矮性変異体を７個体選抜した。その後，世代を重ねて変異の安定性を確認し，それぞれ系統名として「IRBFT-6，20，38，45，63，67，77」を付した。生育特性の評価は，農業生物資源研究所放射線育種場（茨城県常陸大宮市）の試験圃場において実施し，2005年に「IRBFT-6，20，38，45，63，67」，2006年に「IRBFT-77」を栽培した。施肥は全量元肥とし，N，P_2O_5，K_2Oを各2.8g/㎡施用した。IRBFT-6と20は，畦間60cm，株間6.5cmで4.8㎡の面積に４畦播種し，成熟期に耐倒伏性を調査した後，地際から収穫して，生育中庸な10個体について草丈・主茎節数などの特性を調べた。また，IRBFT-38，45，63，67，77と原品種は，それぞれ１畦に最大10粒播種し，成熟期に耐倒伏性を調査した後，正常な生育を示す個体を対象として生育特性の調査を行った。

第Ⅲ－11表　　半矮性変異系統の由来

系統	照射日	原品種	線種	LET[1)] (keV/μm)	線量 (Gy)	照射場所
IRBFT- 6	99/07/21	Pontivy	ガンマ線	0.2	50	放育場
IRBFT-20	99/07/21	北海T8号	ガンマ線	0.2	500	放育場
IRBFT-38	99/12/21	Rotundatum	ヘリウム	9	40	原研
IRBFT-45	01/03/15	Rotundatum	炭素	23	40	理研
IRBFT-63	02/02/25	Rotundatum	炭素	39	100	理研
IRBFT-67	02/07/05	Rotundatum	鉄	630	30	理研
IRBFT-77	04/06/09	Rotundatum	アルゴン	305	20	理研

1) 線エネルギー付与

(2)半矮性遺伝子座の遺伝解析

①　原品種との交配およびF$_2$世代での分離調査

供試材料として，IRBFT-6，20，45の半矮性３系統およびそれらの原品種「Pontivy」,「北海Ｔ８号」,「Rotundatum」を用い，2006～2007年にかけて，北海道農業研究センター芽室研究拠点および農業生物資源研究所放射線育種場の温室内で交配を行った。交配では温湯除雄法を利用し，原品種の最頂花房に44℃・３分間の温湯処理を行った後，翌朝に開花した花の柱頭に半矮性系統の葯を擦り付けて人工授粉した。結実した種子は，成熟色(褐色)になった時点で収穫し，１ヶ月以上温室内に放置して休眠覚醒を促した後，ポットに播種した。F$_1$世代は温室内で栽培し，成熟期に個体ごとに採種した。F$_2$世代の栽培は，2008年に放射線育種場の試験圃場で行い，生育期に草型(半矮性または野生型)の分離を調査した。なお，半矮性と野生型の判別は，半矮性個体が生育初期から節間が短く草丈が低いため，本葉４～５枚の時期には野生型との識別が容易であり，達観での実施が可能であった(第Ⅲ－６図)。



第Ⅲ－６図　半矮性系統と野生型の４～５葉期の草姿
IRBFT-20（左）と北海Ｔ８号（右）

②　片側ダイアレル交配およびF$_2$世代の分離調査

供試材料として，すべての半矮性系統(IRBFT-6，20，38，45，63，67，77)を用い，2008年４～11月にかけて，北海道農業研究センター芽室研究拠点の温室内で総当たり交配を順次実施した。F$_1$世代はポットに播種して温室内で養成し，播種後１ヶ月半ほど経過した時点で草型(半矮性または野生型)の調査を行い，半矮性系統間の遺伝子座の異同を推定した。F$_1$世代で野生型を示した一部の組合せについては，個体ごとにF$_2$種子を採種し，それぞれF$_2$集団を温室内のプランターに播種して，１ヶ月半ほど経過した時点で草型(半矮性または野生型)の分離を調査した。なお，半矮性と野生型の判別は，前述と同様に達観で行った。

２）結果および考察

(1)各半矮性系統の特性

供試系統の特性を第Ⅲ－12表に示したが，半矮性系統の草丈と主茎長は，全て原品種の１/３～２/３程度であった。ダッタンソバの草丈と収量との間には一般に正の相関が存在するが(森下ら，2006)，これらの半矮性系統は，草丈の低下に伴う株当たりの子実重の減少が少なかった。一方，原品種と半矮性系統の主茎長には明らかな差があるにもかかわらず，主茎節数はほぼ同じであった。つまり，原品種の主茎の平均節間長が５cm以上であったのに対し，半矮性系統は2.0～3.2cmの範囲で明らかに短く，このことが主茎の強度を高め，耐倒伏性をもたらしているものと考えられた。供試した全ての半矮性系統の千粒重は原品種よりも全て小さかったが，その

第Ⅲ－12表　半矮性系統の特性

系統・品種	草丈 (cm)	主茎長 (cm)	主茎節数	主茎平均節間長 (cm)	一次分枝数	子実収量 (g/株)	千粒重 (g)	耐倒伏性[1)]	調査株数	調査年
IRBFT- 6	51.4	49.3	18.0	2.7	8.3	6.3	14.1	9	10	2005
IRBFT-20	60.1	57.9	20.1	2.9	8.3	6.9	13.8	9	10	2005
IRBFT-38	41.8	34.7	13.9	2.5	7.8	7.2	13.9	9	10	2005
IRBFT-45	63.7	57.7	20.9	2.8	8.6	14.1	15.0	9	9	2005
IRBFT-63	58.7	48.8	16.0	3.1	7.3	14.7	15.8	9	3	2005
IRBFT-67	60.9	57.0	17.6	3.2	7.7	14.9	17.0	9	6	2005
IRBFT-77	37.7	33.9	16.7	2.0	9.0	5.2	16.4	9	9	2006
Pontivy	102.6	94.1	19.0	5.0	8.8	8.4	18.0	3	5	2005
北海T8号	112.6	106.0	20.4	5.2	8.4	12.6	19.4	5	5	2005
Rotundatum	134.6	132.5	20.4	6.5	8.6	10.9	19.4	5	5	2005

[1)] 1：極弱，3：弱，5：中，7：強，9：極強

中でも，IRBFT-67の子実は相対的に大きかった。また，IRBFT-45の一次分枝数は原品種よりやや多く，IRBFT-38の主茎節数は少ないなど，半矮性系統間でも形態的特徴が僅かに異なっていた。これらの半矮性系統の草型はかなり特徴的であり，ダッタンソバの遺伝資源からはこれまで見出されておらず，人為突然変異による新規の形質と考えられた。

(２)半矮性遺伝子座の遺伝解析

IRBFT-6，20，45と各原品種とを交配したF_1は，いずれの組合せとも野生型であり，雌親である原品種との差異は識別できなかった。F_2世代では，野生型：半矮性＝３：１に近い比率で分離し(第Ⅲ－13表)，χ^2検定でも，いずれの組合せとも野生型：半矮性＝３：１の分離比に適合し，核の劣性一遺伝子支配が推測された。ただし，Pontivy × IRBFT-6の組合せでは，調査個体数が少ないため９：７の分離比にも適合する結果となり，二遺伝子支配であることを否定できなかった(第Ⅲ－13表)。放射線による突然変異育種においては，一般に，大部分が優性遺伝子から劣性遺伝子への変異であることが知られており，IRBFT-6，20，45の半矮性についても，遺伝子の機能喪失などによる劣性突然変異であろうと推察された。

半矮性７系統を供試した片側ダイアレル交配では，全21組合せのうちの12組合せで野生型のF_1が出現し，残りの９組合せからは，半矮性の後代のみが得られた(第Ⅲ－７図)。なお，IRBFT-20×IRBFT-38およびIRBFT-38× IRBFT-45の組合せにおいて，各１個体ずつ半矮性が出現したが，これらは，不完全な除雄による自殖後代であると考えられた(Mukasa *et al.* 2007a)。すべての後代が半矮性であった９組合せは，IRBFT-6，20，45から成るIRBFT-6 × IRBFT-20，IRBFT-6×IRBFT-45，IRBFT-20 × IRBFT-45と，IRBFT-38，63，67，77から成るIRBFT-38× IRBFT-63，IRBFT-38× IRBFT-67，IRBFT-38 × IRBFT-77，IRBFT-63× IRBFT-67，IRBFT-63 × IRBFT-77，IRBFT-67× IRBFT-77の２群に分けることができた。このことから，IRBFT-6，20，45を支配している半矮性遺伝子，およびIRBFT-38，63，67，77の半矮性遺伝子は，それぞれ同一の遺伝子座に支配されると考えられた。一方，IRBFT-6，20，45の群とIRBFT-38，63，67，77の群との交配により得られたF_1は，いずれ

第Ⅲ－13表　原品種と半矮性系統との交配F_2世代における草型の分離

組合せ	個体数		χ^2	P	χ^2	P
	野生型	半矮性	3:1		9:7	
Pontivy × IRBFT-6	21	9	0.40	0.53	2.30	0.13
北海T8号 × IRBFT-20	54	17	0.04	0.84	11.32	< 0.01 **
Rotundatum × IRBFT-45	60	13	2.01	0.16	19.96	< 0.01 **

**：1%水準で有意。

♀＼♂	IRBFT-20	IRBFT-38	IRBFT-45	IRBFT-63	IRBFT-67	IRBFT-77
IRBFT-6	半矮性　6	野生型　3	半矮性　4	野生型　5	野生型　4	野生型　4
IRBFT-20		野生型　4 (半矮性　1)	半矮性　5	野生型　4	野生型　7	野生型　5
IRBFT-38			野生型　2 (半矮性　1)	半矮性　5	半矮性　3	半矮性　1
IRBFT-45				野生型　3	野生型　4	野生型　4
IRBFT-63					半矮性　17	半矮性　14
IRBFT-67						半矮性　16

第Ⅲ－７図　片側ダイアレル交配後代F_1個体の草型

図中の数値は調査個体数。

の組合せでも野生型であったことから，両群を支配する半矮性遺伝子座は異なると考えられた。

IRBFT-38，63，67，77については，これまでIRBFT-20との半矮性遺伝子座の異同を優先的に調べてきた経緯から，原品種との交配は実施しておらず，半矮性に関与する遺伝子座の数は推定できていない。そこで,片側ダイアレル交配の組合せのうち，IRBFT-20 × IRBFT-38，IRBFT-20×IRBFT-63，IRBFT-20× IRBFT-67，IRBFT-20×IRBFT-77の４組合せについて，F_2世代における草型の分離を調査し,関与する遺伝子座数を推定した。分離様式は，４組合せとも劣性の二遺伝子が独立遺伝する時に期待される野生型：半矮性＝９：７に適合し(第Ⅲ－14表)，三劣性遺伝子支配を想定した分離比27：37にはいずれの組合せも適合しなかった。このことから，IRBFT-38，63，67，77の半矮性は，IRBFT-6，20，45とは異なる遺伝子座の劣性一遺伝子に支配されると結論した(以降，IRBFT-6，20，45の半矮性遺伝子を *sdA*，IRBFT-38，63，67，77の半矮性遺伝子を *sdB* とする)。なお，半矮性を有するF_2個体には，二重劣性(*sdAsdAsdBsdB*)が混在していたと考えられるが，本試験では，野生型と半矮性の判別を温室での初期生育段階で行ったため，*sdA* と *sdB* の相加的な効果については検討していない。

今後は，これら半矮性の原因遺伝子の分子遺伝学的な検討のほか，各々どのような生理的機作により半矮性の形質を発現するかなど，基礎的な知見を積み重ねる必要があると考える。また，育種におけるこれらの半矮性遺伝子の有用性の評価もさらに進める必要がある。

５．濃赤色子葉形質の遺伝解析

日本や韓国には，ソバの芽出し野菜の食習慣があり(Kim *et al.* 2001；Kim *et al.* 2004)，ダッタンソバの芽出し野菜も商品開発されている。北海道農業研究センターが育成したダッタンソバ「北海 T10号」は，子葉の色が特徴的な濃赤色を呈し，芽出し野菜用の品種として着目されている(Musaka *et al.* 2007c)。「北海 T10号」の幼植物体は，ケラシアニンやクロマニンなどの抗酸化活性を有するアントシアニンを多量に蓄積し(Kim *et al.* 2006)，機能性食品としても期待されている。本節では,「北海 T10号」の濃赤色子葉形質の遺伝的特性を調べるとともに，アントシアニンの一種であるケラシアニンの含量を調査した。加えて，芽出し野菜生産における殻離れの向上を目指して,「北海 T10号」と易脱ぷ性個体との交配を行い，濃赤色子葉と非固着性そば殻との形質間の関係を調べた。

１） 材料および方法

(１)濃赤色子葉の遺伝特性の調査

供試材料には,濃赤色子葉を有する「北海 T10号」および緑色の子葉を有する「北海Ｔ８号」を用い，2005年11月18日に育苗ポット(Φ10.5cm)に播種して,十分な数の蕾が得られるまで温室内で養成した。温室は冬期間15℃以上に加温し，人工照明による日長調節は行わなかった。「北海 T10号」は2006年１月25日に温湯除雄した後(Musaka *et al.* 2007a)，翌朝に「北海Ｔ８号」の葯を花柱になすりつけて人工授粉を行い，交配番号を06T01と付した。結実した種子は，果皮が成熟色になった時点で収穫した。

逆交配(「北海Ｔ８号」×「北海 T10号」)に用いる材料は2006年１月20日に播種し，温室内で養成した後，３月30日に温湯除雄を実施し，翌朝に「北海 T10号」を人工授粉して，交配番号を06T02と付した。

F_1種子は，休眠覚醒のために室温で約１ヶ月間保存した後，育苗ポットに１粒ずつ播種した。交配番号06T01の幼植物体のうち，子葉色が雌親と同一の数個体を淘汰した後，温室内で植物体を養成し，

第Ⅲ－14表　半矮性系統間の交配F_2世代における草型の分離

組合せ	個体数		χ^2	P	χ^2	P	
	野生型	半矮性	9:7		27:37		
IRBFT-20 × IRBFT-38	109	85	0.01	0.99	15.59	< 0.01	**
IRBFT-20 × IRBFT-63	64	56	0.41	0.52	6.11	0.01	*
IRBFT-20 × IRBFT-67	137	103	0.07	0.79	21.83	< 0.01	**
IRBFT-20 × IRBFT-77	130	109	0.33	0.56	14.60	< 0.01	**

*，**：5%および1%水準でそれぞれ有意。

成熟期にＦ$_1$個体ごとにＦ$_2$種子を収穫した。Ｆ$_1$個体由来のＦ$_2$集団は，それぞれ「06T01-1，06T01-2，---」，あるいは「06T02-1，06T02-2、---」として番号を付した。

Ｆ$_2$世代では，Ｆ$_2$集団ごとに150 ～ 200粒の種子を用い，湿らせたペーパータオルを敷いたプラスチックトレー（10×14cm）に播種後，滅菌土壌で覆土して，定期的に灌水しながら実験台の上で栽培した。播種後10日目における幼植物体の子葉色の分離を調査して，分離比のχ^2検定を行った。

（２）アントシアニン含量の測定

Ｆ$_2$集団の「06T01-7」，「06T02-7」および親品種の「北海Ｔ８号」，「北海 T10号」を供試し，濡れたペーパータオルを敷いたプラスチックトレー（10×14cm）に播種後，滅菌土壌で覆土して，蛍光灯下（400－500lux）で栽培した。播種後10日目に，「北海Ｔ８号」と「北海 T10号」は各50個体，「06T01-7」と「06T02-7」は各100個体ずつ地際から収穫し，生体重を測定した。収穫した幼植物体は，10ml の溶媒（80％（v/v）メタノール，20％（v/v）0.1％酢酸）に浸漬し，30℃で１日間放置してアントシアニン類を抽出した。抽出液は，フィルター（孔径0.5μm）で濾過した後，高速液体クロマトグラフ（HPLC）で分析した。なお，分析条件は，移動相の流量が0.3ml/min，２液のグラジェントモードで，A 液が7.5％（v/v）アセトニトリルと92.5％（v/v）水の混合液（0.1％トリフルオロ酢酸を含有），B 液が55％（v/v）アセトニトリルと45％（v/v）水の混合液（0.1％ トリフルオロ酢酸を含有）であり，B 液の混合比が，０分で５％，15分で20％，15.01分～ 30分まで０％の設定で行った。また，分離には ODS カラム（Cadeuza CD-C18，150× ２mm，Imtakt 社）を用い，紫外・可視検出器により512.4nm の波長でアントシアニン類を検出した。ケラシアニン（シアニジン -3-*O*- ルチノシド）濃度は，ケラシアニン塩化物の標準試薬（Extrasynthese 社，フランス）を利用して外部標準法により定量した。

（３）濃赤色子葉と非固着性そば殻との形質間の関係の調査

緑色子葉で非固着性のそば殻を有する２系統（系統番号「06T07-1-1g-1g」および「06T07-1-1g-2g」）を雌親，濃赤色子葉で固着性のそば殻を有する「北海 T10号」を雄親として用いた。2007年３月５日に育苗ポットに播種して温室内で植物体を養成した後，４月16日に交配を実施した。各組合せには，それぞれ交配番号を「07T11」および「07T12」と付した。Ｆ$_1$種子は５月24日に育苗ポットに播種し温室内で植物体を養成した後，成熟期にＦ$_1$個体ごとにＦ$_2$種子を収穫して，それぞれ「07T11-1，07T11-2，---」，あるいは「07T12-1，07T12-2，---」と番号を付した。各Ｆ$_2$集団から50粒の種子をプランターに播種し，出芽後に子葉色を調べるとともに，成熟期にはそば殻の固着性を調査し，分離比のχ^2検定を行った。

２） 結果と考察

（１）後代での子葉色の分離

「北海 T10号」×「北海Ｔ８号」の交配では，雌親として５個体の「北海 T10号」を用い，25粒の種子が得られた。Ｆ$_1$養成では，未発芽や苗立ち枯れ病による枯死のため，採種できたＦ$_2$は12集団（「06T01-1」～「06T01-12」）であった。逆交配では，雌親として６個体の「北海Ｔ８号」を用い，26粒の種子が得られたが，Ｆ$_1$養成での苗立ち枯れ病などのため，最終的に採種できたＦ$_2$は９集団（「06T02-1」～「06T02-9」）であった。

第Ⅲ章第１節でも述べた通り（第Ⅲ－１図），Ｆ$_1$個体の出芽直後の子葉色は，正逆交配とも赤みを帯びた緑色であり，「北海 T10号」の濃赤色子葉とは明確に異なり，「北海Ｔ８号」の子葉色に近かった。また，子葉の赤みは植物体の生長に伴い消失し，数日中には「北海Ｔ８号」と識別できなくなった。Ｆ$_2$世代でも，出芽直後には赤みを帯びた緑色の子葉を有する個体が観察できたが，播種後10日目には，濃赤色と緑色との識別しかできず，本試験では，分離個体を２区分（濃赤色－緑色）に分類して個体数を調べた。

Ｆ$_2$世代での子葉色の分離様式は，「06T02-4」の１集団を除いて，正逆交配とも緑色：濃赤色＝３：１に適合し（第Ⅲ－15表），濃赤色子葉の形質が劣性一遺伝子に支配されることを示していた。第Ⅲ－15表には「06T01」に由来する６集団および「06T02」に由来する６集団の分離様式のみを示したが，その他のＦ$_2$集団も分離様式は同じであった。なお，「北海 T10号」は「北海Ｔ８号」の突然変異体に由来する品種であり，この濃赤色子葉を支配する劣性遺

第Ⅲ－15表 「北海Ｔ８号」と「北海T10号」の正逆交配Ｆ$_2$世代における子葉色の分離様式

(a) 「北海T10号」×「北海T8号」(06T01)

F_2集団[1)]	子葉色		χ^2	P	
	緑色	濃赤色	3:1		
06T01-1	102	37	0.19	0.66	
06T01-2	107	38	0.11	0.74	
06T01-3	125	36	0.60	0.44	
06T01-4	123	44	0.16	0.69	
06T01-5	107	39	0.23	0.63	
06T01-6	129	44	0.02	0.90	
total	693	238	0.16	0.69	

(b) 「北海T8号」×「北海T10号」(06T02)

F_2集団[1)]	子葉色		χ^2	P	
	緑色	濃赤色	3:1		
06T02-1	154	47	0.28	0.60	
06T02-2	151	50	0.00	0.97	
06T02-3	148	55	0.47	0.49	
06T02-4	139	65	5.12	0.02	*
06T02-5	146	56	0.80	0.37	
06T02-6	143	56	1.05	0.31	
total	881	329	3.10	0.08	

[1)] F_2集団は，1個体のF_1に由来する。

伝子は，何らかの遺伝子の機能欠損によるものではないかと推察している。

(2)Ｆ$_2$個体における幼植物体中のケラシアニン含量

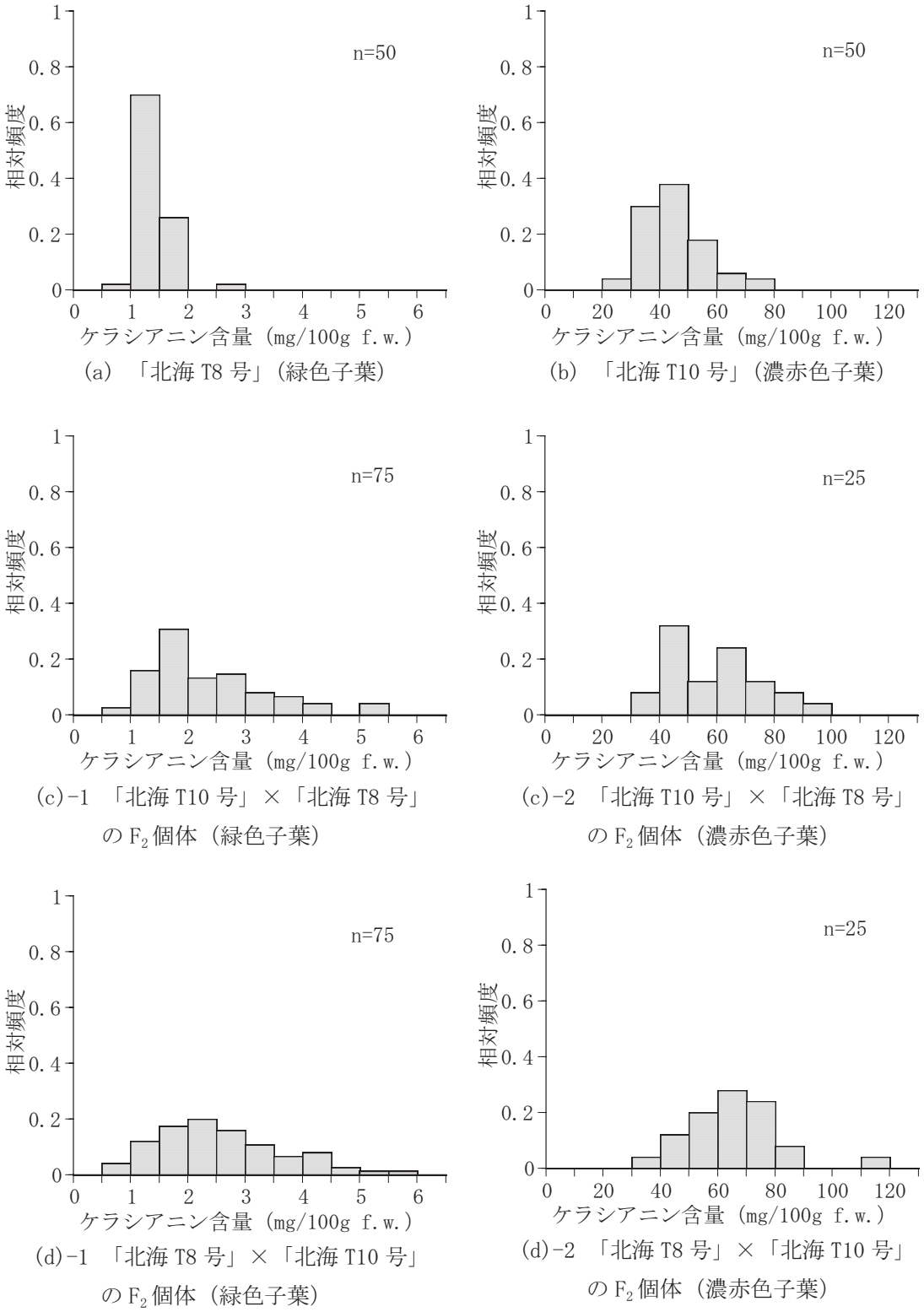
ケラシアニンは，ダッタンソバ幼植物体に含まれる主要なアントシアニンであり(KIM *et al.* 2006)，塩化ケラシアニン試薬の水溶液は赤色を呈する。幼植物体中のケラシアニン含量は,「北海Ｔ８号」が0.9～2.5mg/100 g f.w.に対し，「北海T10号」は28.0～78.7mg/100 g f.w.であり(第Ⅲ－８図(a)および(b))，「北海T10号」が約34倍も高含有していた。

Ｆ$_2$世代でも，濃赤色子葉の個体は多量のケラシアニンを含有しており，「06T01-7」の緑色子葉の分離個体が0.5～5.5mg/100 g f.w.に対し，濃赤色子葉の分離個体は33.2～90.3mg/100 g f.w.であった(第Ⅲ－８図(c)－１および(c)－２)。逆交配の「06T02-7」でも同様の傾向であり，緑色子葉の個体が0.8～5.6mg/100 g f.w.に対し，濃赤色子葉の個体は37.8～113.1mg/100 g f.w.であった(第Ⅲ－８図(d)－１および(d)－２)。

一方，緑色子葉の個体のケラシアニン含量に着目すると，「北海Ｔ８号」のヒストグラムでは1～1.5mg/100 g f.w.付近に鋭いピークを有するのに対し(第Ⅲ－８図(a))，Ｆ$_2$分離個体では，正逆交配ともなだらかなピークを有しており(第Ⅲ－８図(c)－１および(d)－１)，多数の個体が「北海Ｔ８号」よりもケラシアニンを多く含有していた。Ｆ$_2$集団内の緑色子葉の個体には，濃赤色子葉の遺伝子座に関して遺伝的にホモなものとヘテロなものが含まれると考えられ，恐らくは，ヘテロ個体の多くが「北海Ｔ８号」よりもケラシアニンを多く含有するものと推察された。

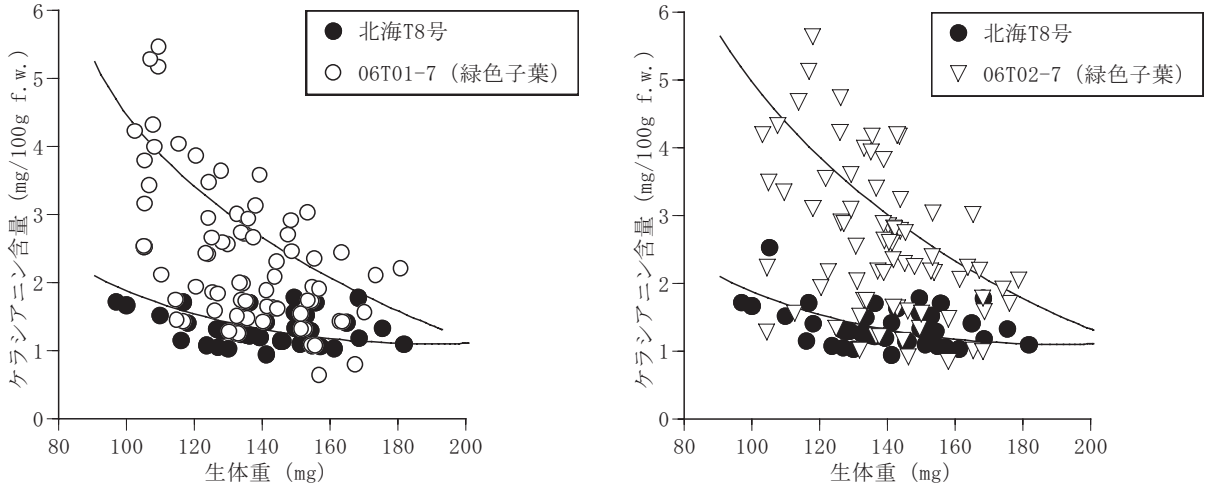
第Ⅲ－９図には，緑色子葉を有する幼植物体の生体重とケラシアニン含量との関係を示した。「06T07-1」のＦ$_2$個体で緑色子葉を有するものは，生体重が大きいほどケラシアニン含量が少ない傾向が見られた(第Ⅲ－９図(a))。同じ図中に「北海Ｔ８号」をプロットすると，「北海Ｔ８号」の傾向と重複する個体がある一方，その上側にもう一つの傾向があることが伺えた。これは恐らく，緑色子葉の表現型を有する個体の中に，濃赤色子葉の遺伝子座に関して遺伝的にホモなものとヘテロなものが含まれることと関係し，上側の傾向はヘテロ個体，下側はホモ個体によるものと推察された。また，生体重の増加に伴って，上側の傾向が下側の傾向に近づくことは，Ｆ$_1$やＦ$_2$個体での赤みを帯びた緑色子葉の個体が，生育に伴って「北海Ｔ８号」と識別できなくなるという観察結果とも一致する。同様の傾向は「06T02-7」のＦ$_2$個体でも観察された(第Ⅲ－９図(b))。

他方，濃赤色子葉を有する分離個体のケラシアニン含量のヒストグラムは，全般に「北海T10号」より高含量側にシフトしていたが，ヒストグラムの形状は「北海T10号」と大きく異なるものではなかった(第Ⅲ-8図(b)，(c)-2および(d)-2)。生体重とケラシアニン含量との関係を調べたところ，「06T01-7」のＦ$_2$個体で濃赤色子葉を有するものは，生体重が大きいほどケラシアニン含量が少なく(第Ⅲ-10(a))，「北海T10号」の傾向とも重複した。同様の傾向は「06T02-7」のＦ$_2$個体でも観察された(第Ⅲ-10 (b))。供試材料の養成において，Ｆ$_2$集団の発芽が「北海Ｔ８号」や「北海T10号」よりも若干遅いことを観察しており，第Ⅲ-8図(c)-2および(d)-2におけるヒストグラムのシフトは，生育ステージの若干の差に起因するものと考えられた。



第Ⅲ－８図　ダッタンソバ幼植物体（子葉＋胚軸）のケラシアニン含量のヒストグラム

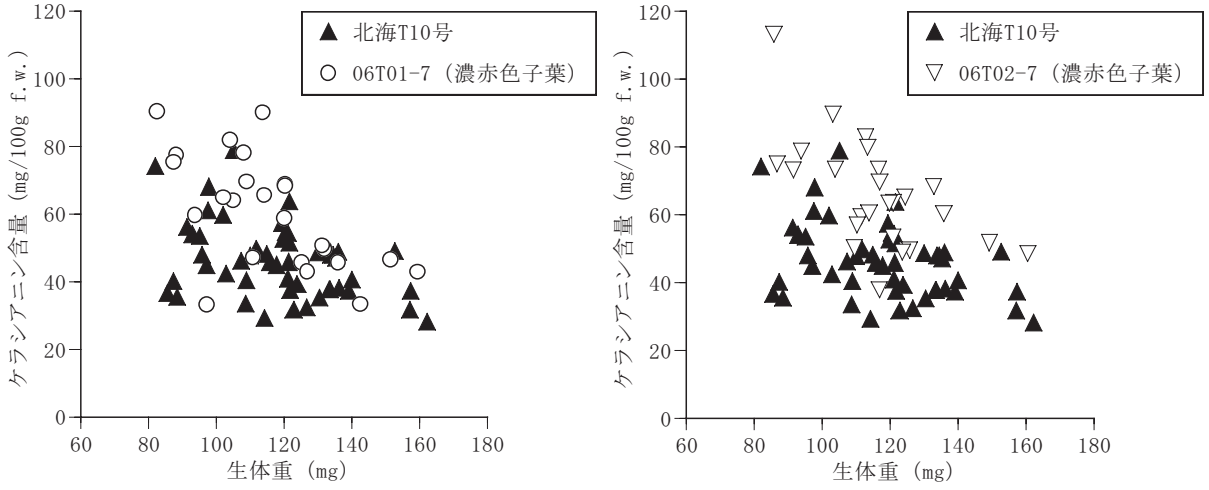
(a)「北海Ｔ８号」（親系統；緑色子葉），(b)「北海 T10号」（親系統；濃赤色子葉），
(c)-1「北海 T10号」×「北海Ｔ８号」(06T01-7)のＦ２個体で緑色子葉を有するもの，
(c)-2「北海 T10号」×「北海Ｔ８号」(06T01-7)のＦ２個体で濃赤色子葉を有するもの，
(d)-1「北海Ｔ８号」×「北海 T10号」(06T02-7)のＦ２個体で緑色子葉を有するもの，
(d)-2「北海Ｔ８号」×「北海 T10号」(06T02-7)のＦ２個体で濃赤色子葉を有するもの。



(a)「北海 T10 号」×「北海 T8 号」の F_2 個体（緑色子葉）　(b)「北海 T8 号」×「北海 T10 号」の F_2 個体（緑色子葉）

第Ⅲ－９図　緑色子葉の幼植物体(子葉＋胚軸)における生体重とケラシアニン含量との関係

(a)「北海 T10号」×「北海 T 8号」(06T01-7)の F_2 分離個体で緑色子葉を有するものと雄親の「北海 T 8号」との比較。
(b)「北海 T 8号」×「北海 T10号」(06T02-7)の F_2 分離個体で緑色子葉を有するものと雌親の「北海 T 8号」との比較。



(a)「北海 T10 号」×「北海 T8 号」の F_2 個体（濃赤色子葉）　(b)「北海 T8 号」×「北海 T10 号」の F_2 個体（濃赤色子葉）

第Ⅲ－10図　濃赤色子葉の幼植物体(子葉＋胚軸)における生体重とケラシアニン含量との関係

(a)「北海 T10号」×「北海 T 8号」(06T01-7)の F_2 分離個体で濃赤色子葉を有するものと雄親の「北海 T10号」との比較。
(b)「北海 T 8号」×「北海 T10号」(06T02-7)の F_2 分離個体で濃赤色子葉を有するものと雌親の「北海 T 8号」との比較。

(3)非固着性のそば殻と濃赤色子葉の形質間の関係

第Ⅲ－16表には，緑色子葉で非固着性のそば殻を有する２系統と「北海 T10号」の交配 F_2 集団における，そば殻特性と子葉色の分離様式を示した。分離比はいずれも，[固着性・緑色子葉]：[固着性・濃赤色子葉]：[非固着性・緑色子葉]：[非固着性・濃赤色子葉] ＝９：３：３：１に適合し，非固着性のそば殻と濃赤色子葉は，お互いに独立した形質であることが示唆された。このことから，二重劣性である［非固着性・濃赤色子葉］の系統を育成することは，それほど難しくはないと判断した(MUSAKA *et al.* 2007c；MUSAKA *et al.* 2009)。

第Ⅲ－16表　F_2植物体（F_3種子）における殻の特性（固着性－非固着性）と子葉色（緑色－濃赤色）の分離様式

F_2集団	個体数				χ^2	P
殻の特性	固着性		非固着性		9:3:3:1	
子葉色	緑色	濃赤色	緑色	濃赤色		
「06T07-1-1g-1g」×「北海T10号」						
07T11-1	35	8	6	1	4.54	0.21
07T11-2	32	9	8	0	3.93	0.27
07T11-3	29	6	12	1	3.48	0.32
07T11-4	29	10	8	1	1.70	0.64
07T11-5	30	7	3	3	4.75	0.19
07T11-6	28	8	11	1	1.93	0.59
07T11-7	24	8	15	4	4.32	0.23
07T11-8	19	17	8	4	9.93	0.02
Total	226	73	71	15	3.85	0.28
「06T07-1-1g-2g」×「北海T10号」						
07T12-1	26	10	11	2	0.89	0.83
07T12-2	34	7	5	1	5.46	0.14
07T12-3	30	11	9	1	1.81	0.61
07T12-4	29	8	10	2	0.67	0.88
Total	119	36	35	6	3.98	0.26

なお，試験を通じて，濃赤色子葉を有する個体は，緑色子葉の個体と比較して生育がかなり劣ることを観察しており，濃赤色子葉の遺伝子自体が，生育に対してかなり悪影響を及ぼしている可能性が非常に高い。現段階では，濃赤色子葉を有する収量性の高い品種の育成は，かなり困難と考えている。

Ⅳ．総合考察

１．普通ソバの育種法と育種

普通ソバは元々，異型花型自家不和合性を有する他殖性作物であり，虫媒による異型花間の相互受粉で結実する。生殖様式が複雑であるため，精緻な育種体系の構築が難しく，集団選抜法や母系選抜法（半きょうだい選抜法）による在来種集団等の改良が主に行われている。他殖性であるため，普通ソバの集団内には遺伝的な雑ぱくさが存在するのが本来の姿であり，集団の改良を行う際には，集団内の遺伝的な雑ぱくさをある程度残しながら，目標形質の斉一化や向上を図らなければならないという難しさがある。つまり，目標形質について向上を図るために選抜圧を高め過ぎると，集団内のヘテロ性が減じ，近交弱勢による草勢の減退で生産力が上がらない結果となり，逆に，近交弱勢を恐れて選抜圧を低くすると，目標形質の向上もおぼつかないというジレンマに陥る。選抜圧の設定は，選抜母集団の特性や目標形質により異なるため，最終的には担当する育種家の試行錯誤によらざるを得ないところもあり，経験の蓄積や伝承により最適化が図られているのが実状である。このため，育種的な収量性の改善が遅々として進まず，過去100年間，日本におけるソバの平均反収がほとんど横ばいに終始している要因の１つにもなっていると考えられる。

自殖性の近縁野生種 *F. homotropicum* からの自家和合性の導入は，自殖による結実の安定化と共に，普通ソバの生殖様式を根本から変えることにより，育種体系を大きく変え，相加的な遺伝効果の集積により，画期的な品種の育成につながるものとして期待を集めた。北海道農業研究センターにおいても，普通ソバと *F. homotropicum* との種間交雑を行い，さらに普通ソバの連続戻し交雑を行って材料養成を進め，第Ⅱ章第１節にある通り，2004年には子実非脱落性選抜を行って，自家和合性ソバの本格的な育種の礎となる個体の選抜に成功した。以降，現在に至るまで，北方系の品種や在来種との交配を進め，自家和合性ソバの純系（近交系）育種を展開している。これまでに，長柱花と等長柱花（自家和合性）との個体間交配数は1000近くに及んでいるが，*homotropicum* のような著しい脱粒の問題は全く発生しておらず，子実非脱落性個体の選抜の正しさは実証されている。

通常の自殖性作物の系統育種では，自殖を前提として，圃場栽培での系統の生育特性を判断材料に選抜を実施するが，自家和合性ソバの場合にも，この系統育種法に準じて，圃場栽培での系統の能力を判断材料に選抜できるのが理想的である。第Ⅱ章第２節では，有限伸育型を形態マーカーとして，自家和合性ソバの放任受粉条件における他殖程度の把握を試みたが，媒介昆虫が存在する条件においても，自殖率は平均して90％以上と推定され，異型花型自家不和合性のため，ほとんど自殖が起こらない普通ソバとは比較にならないほどの高い自殖率を示した。しかし，自家和合性ではあるが，訪花昆虫が自由に飛来できる開花状態になるため，他の自殖性作物と比較すると他殖が起こる確率が高い傾向が伺えた。このため，自家和合性ソバを圃場で育種選抜するには，１割程度の他殖が起こることを前提として，混交により生じた個体を選抜しないための注意を常に払う必要があると考えられた。対策としては，(1) 混交により生じた個体の多くが雑種強勢により生育旺盛となるため，系統内で生育旺盛な１割程度の個体を淘汰し，残りのものから個体選抜を行う。(2) 系統群内での系統間比較を行い，生育が極めて旺盛

な系統からの選抜は行わない。(3) 開放条件での育種選抜は中期世代までにとどめ，後期世代では隔離網室や隔離圃場で栽培，異形淘汰，選抜を行い，純系を養成・維持するなどが考えられる。北海道農業研究センターでは，上記のことを遵守しながら，基本的には圃場条件での選抜を実施しているが，これまで概ね問題なく純系(近交系)の養成が進んでいると認識している。

自家和合性ソバは当初,他の自殖性作物と同様に,自殖を重ねて遺伝的な固定を図り，純系品種として利用する方向が想定されたが，自殖世代が進むにつれて，近交弱勢の克服が極めて困難なことが浮き彫りになってきた。つまり，自殖を繰り返すと，達観でも容易に判断できるほどの草勢の減退が例外なく起こり，乾物生産能力の低下が明瞭であった。第Ⅱ章第４節では，自殖中～後期世代の数系統の自家和合性ソバについて生産力試験を実施しているが，いずれも草丈が低く，全乾物重も少なく，結果的に子実生産量は開放受粉品種の半分にも満たなかった。近交弱勢は，程度の差こそあれ，あらゆる他殖性作物で共通に起こる問題であり，異型花型自家不和合性の普通ソバにおいても普遍的に観察される現象である。供試した自家和合性ソバの場合，自家和合性因子の導入源として自殖性の近縁種を利用してはいるが，諸形質の改良のために普通ソバとの交配を重ねており，*S*座以外の遺伝的背景は，ほぼ普通ソバになっていたと考えられる。自家和合性ソバにおいて自殖を繰り返すことは，普通ソバにおいて近交を繰り返すこととほぼ同じであり，近交弱勢を免れないことは想像に難くない。

他殖性作物は，遺伝的に純系に近づけると近交弱勢により能力の低下が起こるが，逆に，雑種の状態にすると高い能力を発揮するヘテロシスが知られている。積極的に雑種を作る育種的操作としては，細胞質雄性不稔や自家不和合性を利用して一代雑種を採種し，F_1世代を商業生産に利用する方法が，多くの他殖性作物において実用化している。普通ソバでは,これまで細胞質雄性不稔は見出されておらず,現時点での実現可能性の高い方法としては，自家不和合性利用による一代雑種採種に限られる。そのため，第Ⅱ章第５節では，*F. homotropicum* より導入した自家和合性を利用して近交系統を養成した後，長柱花の自家不和合性を利用して近交系統間の単交雑を行い，一代雑種を採種する方法について検討を行った。結果として，F_1純度が90％以上で，収量性も標準品種を上回り，ヘテロシス利用による普通ソバの新たな育種法の可能性が見出されたと考えている。実用化に向けては，さらに高収量な組合せの開発，種子コストの低減，F_1純度の向上，自家不和合性である長柱花近交系統の効率的な維持・増殖法の開発など，技術的な課題がまだまだ多く，現在のところ、育種体系としてはプロトタイプの域を脱していないと考えている。

雑種強勢を積極的に利用する方法としては，上述の一代雑種育種法のほかに，合成品種育種法のアプローチも考えられ，従来型の異型花型自家不和合性集団の改良には，今後，後者の方法も検討の余地が大いにあると考えている。その際，自家和合性を利用して相加的遺伝効果の高い形質の選抜を行った近交系統を片親としながら，短柱花・長柱花集団の全きょうだい系統を養成し，系統の特性評価を行った上で合成品種の構成系統として多交配に用いることにより，相加的遺伝効果の高い形質と非相加的遺伝効果の高い収量性のような形質を同時に改良できるのではないかと考えている。現在，この考えに沿って全きょうだい系統の養成と特性評価を進めている状況にあり，今後，合成集団を作出しながら，雑種強勢により収量性が高まるか否かを確認していく計画である。

２．ダッタンソバの育種法と育種

ダッタンソバは,普通ソバとは生殖様式が異なり,自家受粉で結実する自殖性作物である。このため理論的には，自殖性の主要作物と同様の育種体系を構築し，純系を作出することによって遺伝的な改良を行うことが可能である。これまでダッタンソバは,利用価値が低い作物として育種対象作物として取り上げられることが少なく，研究面においても，交雑育種を行う上での除雄・交配技術すら未確立な状況にあった。しかし，近年の食品機能性研究の隆盛を背景に，ダッタンソバに対する一般の認知度や関心も高まりを見せており，北海道農業研究センターにおいても，育種的な取り組みを鋭意推進しているところである。その中でも交雑育種法は，様々な系統の有する形質を組合せ，新たな品種を作出する有力な手段として捉えている。

第Ⅲ章第１節では，まず，ダッタンソバの交雑育種を進める上での技術上の未解決問題であった除雄

と交配について，イネの育種において広く行われている温湯除雄法の応用を試み，交雑成功率の高い簡易な除雄・交配方法の確立を行った。本法は，ピンセットによる細かな除雄操作が不要なため，操作上の難易度が低く，誰でもが比較的容易に除雄・交配が可能であり，実用性の高い技術と考えている。まれに，不完全な除雄に起因する自殖が起こることがあるため，自殖後代を適切に排除しながら育種を進める必要があるものの，交雑の成功率は，育種を進める上において十分な水準にあると判断している。これまで様々な組合せの交配を実施しているが，いずれの組合せにおいても交雑種子が得られており，除雄・交配技術の信頼性は確認している。

交雑育種を成功させる重要な要素の１つに，両親の選定がある。第Ⅲ章第２節では，早生・易脱ぷ性系統の育成を目標に，片親に極晩生であるが易脱ぷ性を有する系統，もう片親に早生・多収の系統を用いて交配・選抜を実施した。最終目標は，易脱ぷ性によりダッタンソバの抜き実利用を可能とし，用途開発の幅を広げて需要を喚起することである。本研究では，F_3世代の特性評価まで実施し，北海道での栽培に適する早生・易脱ぷ性系統の育成が比較的容易であることを明らかにしたが，その後，系統育種法に準じた選抜を繰り返し，2010年度には育成系統がF_7世代に達し，２年後の品種登録を目指している。現在のところ，収量性は通常のダッタンソバよりもかなり劣るが，北海道で栽培しても早霜前に成熟期に達し，既存の易脱ぷ性系統よりも収量が多いことを確認している。なお，第Ⅲ章第３節の結果は，ダッタンソバを抜き実のまま加熱調理することで，ルチンの酵素分解が回避可能なことを示しており，ルチンの機能性を利用する観点からも，易脱ぷ性系統は興味深いと考えている。

北海道農業研究センターでは，このほか，第Ⅲ章第４節で取り上げた半矮性系統，第５節で取り上げた濃赤色子葉系統，さらにルチン分解酵素低活性系統の諸形質の遺伝解析を実施しており，それら特徴的な形質を組み合わせた系統の開発にも，一部取り組み始めている。交雑育種法の確立により，今後の新品種育成が着実に進むものと考えている。

Ⅴ．摘　要

普通ソバとダッタンソバのソバ属栽培２種について，それぞれの生殖様式に応じた育種法の開発と，様々な育種素材を用いた育種や遺伝解析を実施した。普通ソバでは，近縁野生種 *F. homotropicum* の自家和合性を利用した近交系統の養成と，長柱花の自家不和合性を利用した近交系統間の単交雑による一代雑種育種法の確立を中心に検討した。ダッタンソバでは，温湯除雄法の開発による交配の簡便化を通じて交雑育種体系を構築し，様々な育種素材の遺伝解析を行いながら，純系育成を目指した系統育種を進めた。研究成果を要約すると以下の通りである。

１．近縁野生種 *F. homotropicum* と普通ソバとの種間交雑による自家和合性の導入に伴う，野生種由来の子実脱落性の問題を解決するため，育種に利用可能な子実非脱落性個体の選抜を行った。選抜した個体は，後代検定においても子実脱落性個体を生じず，普通ソバと共通して，子実脱落性の遺伝子座 *sht1* を劣性ホモに有する自家和合性個体と考えられた。

２．自家和合性ソバの放任受粉条件における他殖程度を推定するため，有限伸育型を形態マーカーとして，無限伸育型を花粉源とする後代検定を実施した。次代での有限伸育型個体の出現率は，花粉源の種類（短柱花・長柱花集団または等長柱花・長柱花集団）によらず90％程度であった。また，*S* 座がホモ型（S^hS^h）とヘテロ型（S^hs）の個体間では，次代の有限伸育型出現率に大きな差異はなかった。自家和合性ソバを圃場で栽培すると１割程度の他殖が起こり得るため，育種選抜においては他殖後代を選抜しないよう，注意を払う必要があると考えられた。

３．自家和合性個体を母本とする交配における除雄作業の効率化のため，温湯除雄法の適用を検討した。翌朝に開花する蕾を含む最頂花房に対して温湯処理を行い，処理温度と処理時間を検討した結果，42℃・５分間が除雄・交配に最適であると判断した。本法は，自家和合性ソバの省力的な除雄法として，実際の交配においても随時利用している。

４．自家和合性ソバの中～後期世代の生産力を評価したところ，いずれの系統も開放受粉品種である標準の「キタワセソバ」の収量を大きく下回り，全乾物重も小さく，生育が貧弱であった。これは，近交弱勢による生育減退と考えられ，自家和合性導入による結実安定化のメリットよりも，近交弱勢のデメリットが遙かに大きいと

考えられた。

5．そこで，自家和合性を利用して養成した近交系統を用いて，単交雑によるヘテロシス育種の可能性を検討した。等長柱花系統を花粉親，長柱花系統を種子親として一代雑種を採種したところ，F_1純度は90％以上であり，雑種強勢による生育の旺盛化も認められた。単交雑一代雑種の子実収量は，開放受粉の標準品種である「キタワセソバ」よりも，平均して10%ほど上回り，多収化におけるヘテロシス育種の有効性が示唆された。

6．自家和合性による遺伝解析の容易さを利用し，グリーンフラワー形質の遺伝性および難脱粒性との関係を調査した。グリーンフラワーは劣性一遺伝子に支配され，その遺伝子座は，自家和合性を支配する*S*座とは独立していた。小果柄の抗張強度は，グリーンフラワーの形質と強く相関しており，遺伝的には，多面発現か強い連鎖が示唆された。グリーンフラワーは，難脱粒性育種における識別容易な形態マーカーとして利用可能であり，有用な形質と考えられた。

7．ダッタンソバでは，まず，交雑育種を行うための温湯除雄法の開発を行った。交配前日の午後に，翌朝に開花する蕾を含む最頂花房に対して温湯処理を行い，処理温度と処理時間を検討した結果，44℃・３分間が最適であった。若干の自殖種子が残る場合もあるが，多くの系統に適用可能であり，ダッタンソバの交雑育種において，実用的な除雄技術を確立できた。

8．温湯除雄法を利用して，易脱ぷ性ダッタンソバと通常のダッタンソバの交配を行い，交雑親和性や易脱ぷ性の遺伝性を調べ，早生・易脱ぷ性系統を作出した。両者間の交雑は容易であり，易脱ぷ性が劣性一遺伝子支配の形質であり，そば殻の色とは独立なことを明らかにした。また，易脱ぷ性と極晩生は無関係であり，早生・易脱ぷ性の選抜は比較的容易であった。易脱ぷ性ダッタンソバは，有用な育種素材と考えられた。

9．易脱ぷ性ダッタンソバの抜き実，挽き割りおよびそば粉におけるルチン含量の消長を調査した。抜き実中のルチン含量は，水に浸漬しても安定して高かったが，そば粉に加水した場合には10分後に87.5％のルチンが分解し，挽き割りを水に浸漬した場合には，１時間で約１／４のルチンが分解した。抜き実の水抽出液はルチン分解活性が高かったが，無傷の胚をこの抽出液に浸漬してもルチンの分解は起こらなかった。また，抜き実中のルチン含量は，沸騰水中で２時間煮沸しても20％しか減少しなかった。ダッタンソバを粒状のまま加熱調理することで，効果的にルチンを摂取できると考えられた。

10. 放射線突然変異由来の７つの半矮性系統について遺伝解析を行い，遺伝子座の異同を調べた。原品種との交配F_2世代における半矮性形質の分離比から，IRBFT-6, 20, 45の半矮性は，核の劣性一遺伝子に支配される形質と推定された。また，すべての半矮性系統を用いた片側ダイアレル交配のF_1およびF_2の草型から，IRBFT-6, 20，45は同一の半矮性遺伝子(*sdA*)に支配される一方，IRBFT-38, 63, 67, 77は，これとは異なる劣性の半矮性遺伝子(*sdB*)に支配されると推定された。

11. 化学突然変異に由来する濃赤色子葉形質の遺伝解析を行った。原品種との交配F_2世代の分離比は，緑：濃赤色＝３：１に適合し，濃赤色子葉は劣性一遺伝子に支配される形質と推定された。濃赤色子葉の個体は，アントシアニンの１種であるケラシアニンを多量に含んでいた。易脱ぷ性ダッタンソバと濃赤色子葉ダッタンソバとの遺伝解析では，易脱ぷ性と濃赤色子葉を支配する遺伝子座は，互いに独立していると考えられた。

12. 以上の結果を総合的に考察し，今後の育種の方向性として，普通ソバではヘテロシスの積極的な利用，ダッタンソバでは交雑育種による着実な形質の向上が重要であることを提言した。

謝　辞

本研究を遂行するにあたり，ソバの試験研究に携わる多くの方々から，ご指導およびご協力を戴きました。

信州大学大学院総合工学系研究科生物・食料科学専攻生物・生命科学講座教授　南　峰夫氏には，本論文を取りまとめるにあたり，懇切なるご指導・ご校閲の労を賜り，心より感謝申し上げます。また，信州大学大学院総合工学系研究科生物・食料科学専攻生物・生命科学講座教授　福田正樹氏，同大学院同専攻同講座准教授　山田明義氏，同大学院同専攻

同講座准教授　松島憲一氏，静岡大学農学部共生バイオサイエンス学科農学バイオサイエンス講座教授　大村三男氏には，貴重な時間を割いてご指導・ご校閲の労を賜り，深く感謝申し上げます。

元北海道農業研究センター遺伝資源利用研究室長（現　東北農業研究センター寒冷地特産作物研究チーム長）本田　裕氏，元 Kade Research 社代表取締役　Clayton Campbell 氏，北海道農業研究センター寒地地域特産研究チーム（資源作物育種グループ長）森下敏和氏，同研究チーム長　篠田浩一氏には，研究の発案から試験の遂行，結果のとりまとめに至るまで，多大なるご指導･ご教示を賜りました。心より感謝申し上げます。

北海道農業研究センター機能性利用研究北海道サブチーム主任研究員　鈴木達郎氏には，共にソバ研究を推進する同志として，忌憚のない意見や多くの有益な情報を頂きました。元 Kade Research 社研究職員 Yingjie Wang 氏には，自家和合性ソバに関する貴重なご助言を頂きました。元北海道農業研究センター特別研究員（現　韓国忠南大学校農業生命科学大学）金　善州氏，農業生物資源研究所放射線育種場　清水明美氏，元農業生物資源研究所放射線育種場（現　花き研究所）山口博康氏，元農業生物資源研究所放射線育種場（現　沖縄県農業研究センター）出花幸之介氏，新潟薬科大学　相井城太郎氏，日本原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究部門　長谷純宏氏，鹿園直哉氏，田中　淳氏，理化学研究所（現　東北大学）宮沢　豊氏，理化学研究所　林　依子氏，阿部知子氏には，投稿論文の共著者として，多くの有益なご助言を賜りました。謹んで感謝申し上げます。

圃場試験の遂行に際しては，北海道農業研究センター研究支援センター業務第３科　高倉朋宏氏，平尾隆幸氏，中村誠二氏，鈴木雄大氏，大泉正文氏，猿渡孝博氏，山田智久氏をはじめ，多くの技術専門職員の皆様に，圃場管理作業のご支援をはじめ，播種から収穫，調製に至るまで，多大なるご協力を頂きました。また，温室での試験や室内実験を遂行するに当たり，北海道農業研究センター非常勤職員　安藤智美氏，藤井貴久氏をはじめ，多くの非常勤職員の方々に，多大なるご支援を戴きました。ここに記して，厚くお礼申し上げます。

引用文献

1）Aii J., Nagano M., Penner GA., Campbell CG. and Adachi T.（1998）：Identification of RAPD markers linked to the homostylar（*Ho*）gene in buckwheat. Breeding Sci., 48, 59－62.

2）Aii J., Nagano M., Woo SH., Campbell C. and Adachi T.（1999）：Development of the SCAR markers linked to the S^h gene in Buckwheat. Fagopyrum, 16, 19－22.

3）赤藤克己（1958）：授粉統制，“改著作物育種学汎論”，養賢堂，東京．170－184.

4）Alekseeva ES., Malikov VG. and Fallendysh LG.（1988）：Green-flower form of buckwheat. Fagopyrum, 8, 79－82.

5）Alekseeva ES.（2002）：Progress and prospects of buckwheat improvement in Ukraine−Current status and future research. Fagopyrum, 19, 111－113.

6）Alexeeva ES., Kushnir VP., Peluiko ZI., Homina VY. and Gavrilyanchik RY.（2004）：Prospects of green-floral buckwheat in selection and plant-growing. Proc. 9th Intl. Symp. on Buckwheat, 401－403.

7）有田俊幸、沼田邦雄、齊尾恭子（1998）：ダッタンソバ製粉試料の食品成分特性とマイクロ波によるルチン分解酵素の失活について．東京都立食品技術センター研究報告，7，1－6.

8）有田俊幸、沼田邦雄、齊尾恭子（1999）：ダッタンソバ粉の色素の黄変を利用した中華めんの製造について．東京都立食品技術センター研究報告，8，35－39.

9）有田俊幸（1999）：中華麺の着色料としてのダッタンソバ．New Food Industry，41（9），19－24.

10）Campbell CG.（1995）：Inter-specific hybridization in the genus *Fagopyrum*. Proc. 6th Intl. Symp. Buckwheat, 255－263.

11）Campbell CG.（2003）：Buckwheat crop improvement. Fagopyrum, 20, 1－6.

12）Campbell CG.（2004）：Present state and future prospects for buckwheat. Proc. 9th Intl. Symp. Buckwheat, 26－29.

13）Fujita K., Inoue N., Yang Z., Hagiwara S. and Hagiwara M.（2003）：Varietal differences of antioxidant activity in Tartary buckwheat flour as evaluated by chemiluminescence. Fagopyrum, 20, 47－52.

14）Fujita K., Inoue N., Hagiwara S., Yang Z., Kato M. and Hagiwara M.（2004）：Relationship between antioxidant activity and flour and hull color in Tartary buckwheat. Fagopyrum, 21, 51－57.

15）Funatsuki H., Suvorova GN. and Sekimura K.（1996）：Determinate type variants in Japanese buckwheat lines. Breeding Sci., 46, 275－277.

16）Funatsuki H., Maruyama-Funatsuki W., Suzuki T. and

AGATSUMA M.(2000a)：Application of a method for isolated buckwheat seed production using a tetraploid line. Breeding Sci., 50, 221－224.

17)FUNATSUKI H., MARUYAMA-FUNATSUKI W., FUJINO K. and AGATSUMA M.(2000b)：Ripening habit of buckwheat. Crop Sci., 40, 1103－1108.

18)GARBER RJ. and QUISENBERRY KS.(1927)：Self-fertilization in buckwheat. J. Agric. Res., 34, 185－190.

19)HAYASHI H., WANG Y. and CAMPBELL C.(2004)：Gene flow in self-pollinating buckwheat. Proc. 9th Intl. Symp. Buckwheat, 355－359.

20)JIANG P., BURCZYNSKI F., CAMPBELL C., PIERCE G., AUSTRIA JA. and BRIGGS CJ.(2007)：Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species, *Fagopyrum esculentum, F. tataricum* and *F. homotropicum*, and their protective effects against lipid peroxidation. Food Res. Int., 40, 356－364.

21)川上晃、茅原紘、氏原暉男(1995)：ダッタンソバ(*Fagopyrum tataricum*)の苦味の特性とその除去．日本食品科学工学会誌，42，892－898.

22)KIM SL., SON YK., HWANG JJ., KIM SK, HUR HS. and PARK CH.(2001)：Development and utilization of buckwheat sprouts as functional vegetables. Fagopyrum, 18, 49－54.

23)KIM SL., KIM SK and PARK CH.(2004)：Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable. Food Res. Intl., 37, 319－327.

24)KIM SJ., KAWAHARADA C., MAEDA T., ZAIDUL ISM., SUZUKI T., SAITO K., HASHIMOTO N., TAKIGAWA S., NODA T., MATSUURA-ENDO C. and YAMAUCHI H.(2006)：A time-course study of flavonoids and anthocyanins in the sprouts of Tartary (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) buckwheat. Jpn. J. Hort. Sci., 85 (suppl. 1), 152.

25)KITABAYASHI H., UJIHARA A., HIROSE T. and MINAMI M.(1995)：On the genotypic differences for rutin content in Tartary buckwheat, *Fagopyrum tataricum* Gaertn. Breeding Sci., 45, 189－194.

26)近藤頼巳(1939)：温湯除雄法に依る稲の人工交配に就て．農及園，14，41－52.

27)MARSHALL HG.(1969)：Isolation of self-fertile, homomorphic forms in buckwheat, *Fagopyrum sagittatum* Gilib. Crop Sci., 9, 651－653.

28)MARSHALL HG.(1979)：Studies of inbreeding depression, breeding behavior, and heterosis with inbred lines of buckwheat. Crop Sci., 19, 110－114.

29)MATSUBARA T., KUMAMOTO H., IIZUKA Y., MURAKAMI T., OKAMOTO K., MIYATE H. and YOKOI K.(1985)：Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in citrus unshiu peelings. Agric. Biol. Chem., 49, 909－914.

30)MATSUI K., TETSUKA T. and HARA T.(2003a)：Two independent gene loci controlling non-brittle pedicels in buckwheat. Euphytica, 134, 203－208.

31)MATSUI K., TETSUKA T., NISHIO T. and HARA T.(2003b)：Heteromorphic incompatibility retained in self-compatible plants produced by a cross between common and wild buckwheat. New Phytol., 159, 701－708.

32)MATSUI K., NISHIO T. and TETSUKA T.(2004)：Genes outside the *S* supergene suppress S functions in buckwheat. Annals Bot., 94, 805－809.

33)MORISHITA T., YAMAGUCHI H. and DEGI K.(2001)：The dose response and mutation induction by gamma ray in buckwheat. Proc. 8th Intl. Symp. Buckwheat, 334－343.

34)MORISHITA T., YAMAGUCHI H., DEGI K., SHIKAZONO N., HASE Y., TANAKA A. and ABE T.(2003)：Dose response and mutation induction by ion beam irradiation in buckwheat. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B, 206, 565－569.

35)森下敏和、山口博康、出花幸之介、手塚隆久(2006)：ダッタンソバの農業関連形質および子実成分の特性．日本作物学会紀事，75，335－344.

36)MORISHITA T., YAMAGUCHI H. and DEGI K.(2007)：The contribution of polyphenols to antioxidative activity in common buckwheat and Tartary buckwheat grain. Plant Prod. Sci., 10, 99－104.

37)六笠裕治、鈴木達郎、本田裕(2006a)：放任受粉条件における自殖性ソバの他殖程度．育種・作物学会北海道談話会会報，47，65－66.

38)六笠裕治、鈴木達郎、本田裕(2006b)：自殖性ソバの温湯除雄法．育種学研究，8，177－181.

39)MUKASA Y., SUZUKI T. and HONDA Y.(2007a)：Emasculation of Tartary buckwheat(*Fagopyrum tataricum* Gaertn.)using hot water. Euphytica, 156, 319－326.

40)MUKASA Y., SUZUKI T. and HONDA Y.(2007b)：Hybridization between 'Rice' and normal Tartary buckwheat and hull features in the F_2 segregates. Proc. 10th Intl. Symp. Buckwheat, 152－154.

41)MUKASA Y., SUZUKI T. and KIM SJ.(2007c)：Inheritance of a dark red cotyledonal trait in Tartary buckwheat. Fagopyrum, 24, 3－7.

42)MUKASA Y., SUZUKI T. and HONDA Y.(2009)：Suitability of rice-Tartary buckwheat for crossbreeding and for utilization of rutin. JARQ(Japan Agricultural Research Quarterly), 43, 199－206.

43)NANDINI R. and FAKRUDIN B.(1999)：Emasculation in finger millet using hot water. J. Agric. Sci., 33, 6－10.

44)NOMURA Y., HATASHITA M. and INOUE M.(2002)：Production of self-compatible common buckwheat by ion exposure. Fagopyrum, 19, 43－48.

45）Ohnishi O.（1995）：Discovery of new *Fagopyrum* species and its implication for the studies of evolution of *Fagopyrum* and of the origin of cultivated buckwheat. Proc. 6th Intl. Symp. Buckwheat, 175－190.

46）大場伸哉、太田敦子、藤本文弘（1998a）：ソバ属（*Fagopyrum* spp.）植物の脱粒性と小枝強度の関係．日作紀，67（別1），76－77.

47）Oba S., Suzuki Y. and Fujimoto F.（1998b）：Breaking strength of pedicel and grain shattering habit in two species of buckwheat（*Fagopyrum* spp.）. Plant Prod. Sci., 1, 62－66.

48）Oba S., Ohta A. and Fujimoto F.（1999）：Breaking strength of pedicel as an index of grain-shattering habit in autotetraploid and diploid buckwheat（*Fagopyrum esculentum* Moench.）cultivars. Plant Prod. Sci., 2, 190－195.

49）Suzuki T., Honda Y., Funatsuki W. and Nakatsuka K.（2002）：Purification and characterization of flavonol 3-glucosidase, and its activity during ripening in Tartary buckwheat. Plant Sci., 163, 417－423.

50）Suzuki T., Honda Y., Funatsuki W. and Nakatsuka K.（2004）：In-gel detection and study of the role of flavonol 3-glucosidase in the bitter taste generation in Tartary buckwheat. J. Sci. Food and Agri., 84, 1691－1694.

51）Suzuki T., Kim SJ., Takigawa S., Mukasa Y., Hashimoto N., Saito K., Noda T., Matsuura-Endo C., Zaidul ISM. and Yamauchi H.（2007）：Changes in rutin concentration and flavonol-3-glucosidase activity during seedling growth in Tartary buckwheat（*Fagopyrum tataricum* Gaertn.）.Can. J. Plant Sci., 87, 83－87.

52）Wang Y. and Campbell CG.（2000）：Breaking dormancy in buckwheat. Fagopyrum, 17, 45－50.

53）Wang Y. and Campbell CG.（2004）：Buckwheat production, utilization, and research in China. Fagopyrum, 21, 123－133.

54）Wang Y., Scarth R. and Campbell C.（2005a）：S^h and S_c–Two complementary dominant genes that control self-compatibility in buckwheat. Crop Sci., 45, 1229－1234.

55）Wang Y., Scarth R. and Campbell CG.（2005b）：Inheritance of seed shattering in interspecific hybrids between *Fagopyrum esculentum* and *F. homotropicum*. Crop Sci., 45, 693－697.

56）Wang Y., Scarth R. and Campbell C.（2005c）：Interspecific hybridization between diploid *Fagopyrum esculentum* and tetraploid *F. homotropicum*. Can. J. Plant Sci., 85, 41－48.

57）Wang Y. and Campbell GC.（2007a）：First report of male sterility in self-pollinating buckwheat. Proc. 10th Intl. Symp. Buckwheat, 19－24.

58）Wang Y. and Campbell CG.（2007b）：Tartary buckwheat breeding（*Fagopyrum tataricum* L. Gaertn.）through hybridization with its Rice-Tartary type. Euphytica, 156, 399－405.

59）Woo SH., Adachi T., Jong SK. and Campbell CG.（1999）：Inheritance of self-compatibility and flower morphology in an inter-specific buckwheat hybrid. Can. J. Plant Sci., 79, 483－490.

60）Xiping L. and Xianqiong F.（1995）：Clinical effects of Tartary buckwheat on senile hyperlipemia. Proc. 6th Int. Symp. Buckwheat, 947－950.

61）安田俊隆、正木和好、柏木隆史（1992）：ダッタンそば種子に含まれるルチン分解酵素について．日食工誌，39，994－1000.

62）Yasuda T. and Nakagawa H.（1994）：Purification and characterization of the rutin-degrading enzymes in Tartary buckwheat seeds. Phytochem., 37, 133－136.

Res. Bull. NARO Hokkaido Agric.
Res. Cent. 195, 57–114 (2011)

Studies on New Breeding Methodologies and Variety Developments of Two Buckwheat Species (*Fagopyrum esculentum* Moench and *F. tataricum* Gaertn.)

Yuji MUKASA

Summary

New breeding methodologies for common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) and Tartary buckwheat (*F. tataricum* Gaertn.) according to their reproduction systems were studied, and development of varieties was conducted using various genetic resources with heredity analyses of their traits.

1. Breeding of common buckwheat using self-compatibility derived from an autogamous wild relative species (*F. homotropicum* Ohnishi)

At first, selection for non-shattering plants was carried out among the backcrossed populations of the interspecific hybrid between common buckwheat and *F. homotropicum*. A non-shattering self-compatible plant that was estimated to have a non-shattering gene, *sht1*, was successfully obtained through progeny tests. This plant was used as a parent in the following cross breeding for self-compatible buckwheat, and shattering has not been observed since then.

Outcrossing rate of self-compatible buckwheat in an open field was estimated using determinate growth habit as a morphological marker. The percentages of determinate plants were around 90 % in the progeny of self-compatible determinate plants even when they were grown among indeterminate pollen sources. Outcrossing rate of self-compatible buckwheat seemed to be higher than that of other allogamous crops; therefore, we have to pay attention not to select outcrossed progeny.

A method for emasculation of self-compatible buckwheat using hot water was developed to eliminate laborious work for crossing. Apical clusters of flower buds were soaked in hot water and the flowers that had opened the next morning were used for the following artificial pollination. Self-fertilization was completely inhibited by hot water treatment at 42℃ for 5 min, and a relatively high rate of pollinated flower set seeds was obtained by subsequent hand pollination. We concluded that hot water treatment at 42℃ for 5 min was optimum, and we have since routinely used this method for emasculation of self-compatible buckwheat.

The yield of self-compatible lines in middle to late generation was inferior to that of an open-pollinated standard variety. Plant growth was generally weak and total top dry weight was considerably small. We supeculated that inbreeding depression occurred due to repeated selfings. The disadvantage of inbreeding depression was much bigger than the advantage of self-compatibility in pure line breeding.

We then developed an alternative breeding methodology based on the use of self-compatibility. This methodology involves inbred development of homostyle (S^hS^h) and pin (ss) lines by using the self-compatibility gene. Furthermore, single-cross hybrid seeds are produced using these inbred homostyle and pin lines as pollen and seed parents, respectively. This strategy successfully produced self-compatible homostyle hybrids (S^hs)

NARO Hokkaido Agricultural Research Center

; the percentage of hybrid plants among the progeny was more than 90 % . The seed yield of the progeny obtained in single-cross experiments was superior to that of an open-pollinated standard variety by 10% on average. These results suggest that heterosis breeding can be used to increase seed yield in common buckwheat.

The inheritance of a green flower trait and the relationship between the green flower trait and shedding resistance was investigated using self-compatibility. The segregation patterns suggested that the green flower trait was controlled by a single recessive gene and that the green flower locus was independent of the *S* locus. The breaking tensile strength of pedicels in green flower segregates was generally larger than that in white-flower segregates, suggesting that pleiotropy or strong linkage between green flower and strong pedicel existed. The green flower would be a simple morphological marker for seed shedding resistance.

2. Crossbreeding of Tartary buckwheat

At first, a simple emasculation method using hot water was developed to establish the cross-breeding system of Tartary buckwheat. Apical clusters of flower buds were soaked in a constant-temperature water bath in the afternoon, and the flowers that had opened the next morning were used for artificial pollination. The best performance was obtained with treatment at 44℃ for 3 min, in which the seed set of the hand-pollinated flowers was at an acceptable level. The hot water treatment at 44 ℃ for 3 min was available to other varieties and must be practically useful in crossbreeding of Tartary buckwheat. We have been routinely using this method in the crossing of Tartary buckwheat and carrying out the variety development as described below.

Rice-Tartary is a particular Tartary buckwheat variety cultivated and used as a rice replacement in limited areas of Nepal, Bhutan and southern China. It has a non-adhering hull having three lengthwise splits, though other Tartary buckwheat varieties have adhering hulls that are difficult to remove. Hybridizations between Tartary buckwheat and Rice-Tartary buckwheat were not difficult when using hot water emasculation. The segregation patterns suggested that the non-adhering hull trait was controlled by a single recessive gene and was independent of the trait of hull color. Almost no relation was observed between the non-adhering hull trait and extreme lateness, and we were able to develop early maturing Rice-Tartary buckwheat. Rice-Tartary buckwheat is a useful material for crossbreeding, and the non-adhering hull trait may promote grain use of Tartary buckwheat.

Rutin degradation in dehulled whole seeds, grits, and flour of rice-Tartary buckwheat was investigated. Rutin concentration in dehulled whole seeds remained stably high even when immersed in water, while 87.5% of the rutin in flour had degraded 10 min after the addition of water and approximately one-fourth of the rutin in grits degraded when immersed in water for 1 h. Crude infusion of dehulled whole seeds showed a high level of rutin-degrading activity, but degradation of rutin in intact embryos was not observed even when immersed in the infusion, suggesting that the act of crushing embryos is the trigger of rutin degradation. Rutin concentration in dehulled whole seeds decreased by 20% when boiled for 2 h in distilled water, indicating that rutin in dehulled whole seeds has a tolerance to heat. Consumption of dehulled whole seeds may contribute to effective intake of rutin.

Lodging resistance is an important target in Tartary buckwheat breeding. Inheritance of 7 semidwarf strains derived from the mutants by irradiating gamma rays or various ion beams was investigated. The populations of F_2 from crosses between IRBFT-6,20,45 (semidwarf-mutant lines) and their original varieties fitted a 3:1 ratio of wild type to semidwarf type, suggesting that the trait of semidwarf in IRBFT-6,20,45 was controlled by a nuclear single recessive gene. Judging from the plant type (wild versus semidwarf) in F_1 and F_2 of

half diallel cross, it was estimated that IRBFT-6,20,45 had a common semidwarf gene (*sdA*) and IRBFT-38,63,67,77 had another semidwarf gene (*sdB*).

Inheritance of dark red cotyledonal trait was investigated using a mutant variety of Tartary buckwheat. The segregation patterns suggested that the dark red cotyledonal trait in the mutant variety was controlled by a single recessive gene. The segregates having dark red cotyledons contained a much larger amount of keracyanin, a major anthocyanin found in the sprouts of Tartary buckwheat, than did those having green cotyledons. Progeny analysis of the cross between Rice-Tartary type and dark red cotyledonal variety suggested no linkages between the loci of non-adhering hulls and dark red cotyledons.

The results described above indicate that the positive use of heterosis and steady pyramiding of characters through cross-breeding will be important in future breeding of common and Tartary buckwheat, respectively.