

学位論文

ホウレンソウの品質と冬季栽培特性 に関する育種学的研究

(Study on improvement of traits related to
quality and winter cultivation in spinach)

片岡 園

目次

緒言	・・・1
第1章 ホウレンソウのシュウ酸含量および硝酸含量の育種的低減化	
序論	・・・8
試験1 リーフディスク法によるシュウ酸および硝酸含量の測定	・・・9
材料および方法	・・・10
結果および考察	・・・12
試験2 ホウレンソウのシュウ酸および硝酸含量におよぼす温度の影響	・・・21
材料および方法	・・・23
結果及び考察	・・・24
試験3 シュウ酸含量および硝酸含量に関するスクリーニング	・・・33
材料および方法	・・・35
結果および考察	・・・39
試験4 シュウ酸含量および硝酸含量に関する選抜	・・・41
材料および方法	・・・42
結果および考察	・・・48
第2章 ホウレンソウの品種および栽培の違いが加熱後の葉色の保持に与える影響	
序論	・・・59
材料および方法	・・・61
結果および考察	・・・68

第3章	ホウレンソウの低温伸長性に関する品種間差異の解析	
序論		・・・86
試験1	伸長性の品種間差	・・・87
材料および方法		・・・87
結果および考察		・・・89
試験2	個葉の光合成能力と伸長性について	・・・97
材料および方法		・・・97
結果および考察		・・・99
試験3	低温伸長性の異なる品種間の交雑後代における伸長性	・・・105
材料および方法		・・・105
結果および考察		・・・107
総合考察		・・・114
摘要		・・・119
謝辞		・・・121
引用文献		・・・122

緒言

ホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.) は、ヒユ科アカザ亜科ホウレンソウ属の野菜である。コーカサス地方が原産地とされ、イラン地方では古くから栽培されており、そこから東西世界に伝わった (香川, 1997)。日本語の菠薐草も「ペルシャの草」を意味している (香川, 1997)。雌雄異株性であり、概括的に雄株、雌株、および間性株に分かれる (芳賀, 1938; 野原, 1923; Rosa, 1925)。栽培地は広く分布し、亜熱帯から寒帯にまで栽培されている。耐寒性が非常に高く、徐々に順化することでかなりの低温にも耐えられる。カロチンやビタミン、ルテインなどの栄養を豊富に含んでおり、野菜として重要な位置づけにある。世界での生産量は、中国が最も多く、約 22,100,000t にのぼり、次いでアメリカ、日本の順となる (FAOSTAT, 2014)。日本では、多様な品種の使い分けと産地間のリレーにより周年供給の体制がととのっている。2015年度の全国の出荷量は 209,800t (農林水産省, 2015) で、県別では、千葉県、埼玉県、群馬県など首都圏近郊での生産量が多い。これらの産地では主に秋から春の栽培が中心となっている。北海道や岩手県、または群馬県などの寒高冷地では、冷涼な気候を生かして夏の生産量が多い。

日本のホウレンソウの品種は 400 種を超える ((社) 日本種苗協会, 2009) が、現在の育種は主に民間種苗会社によってすすめられ、営利栽培向けの品種はほぼすべてが F₁ 品種である。

主要な育種目標は、べと病などの病害抵抗性と高収量性である。ホウレンソウのべと病はレース分化が多様で、新レースの出現が数年おきに報告されている（窪田，2016）ため、新品種の開発が不可欠となっている。日本でも、種苗会社のカタログにはレース15まで対応したホウレンソウ品種が発表されている。F₁品種が開発されたことで、生育の斉一性、高収量性が担保された。しかし、その一方で、生産性以外の栄養成分などの形質については、重要ではあるが、最優先の育種目標としてはあげられてこなかった。

ホウレンソウの成分に関して、栄養面で優れていることは一般の消費者にも広く知られている。その反面、シュウ酸や硝酸を多く含む野菜としてもよく知られている（Eliaら，1998；香川，1997）。硝酸は、肥料成分として土中から植物体内に取り込まれた後、還元されてアミノ酸やタンパク質等になるが、還元量以上に吸収された硝酸は未還元のまま蓄積され、それが人体に取り込まれることで体内で亜硝酸塩に還元される（孫・米山，1996）。亜硝酸塩は体内でヘモグロビンの酸化につながり、乳児に酸欠症状を引き起こすメトヘモグロビン血症の要因となる（Eliaら，1998；Gangolliら，1994）。海外では井戸水中に含まれる硝酸塩によって多くの発症事例があることが報告されている（越野，1976）。ホウレンソウ中の硝酸塩および亜硝酸塩による発症事例も10数件の報告がある（NAS，1972）。しかし、日本においては同様の報告はなく、その要因として、飲料水の井戸水依存度が低いこと、雨量が多く急峻な地

形であるため地下水に硝酸塩が蓄積しにくいこと，土地に占める農耕地面積が低く施肥の影響が少ないこと，水田が多いため農地からの硝酸態窒素が地下水に達する前に脱窒されること，調査体制の未整備があげられている(熊澤，1998)．さらに，硝酸は発ガン性が指摘されているニトロソアミンを生成すると言われている(Walker，1990)が，硝酸態窒素の成人に対しての影響は明確にはなっていない．人に対する硝酸の制限値として，WHOでは1980年に1540 mg/週を設けている．人がとりこむ硝酸の主要な摂取源は野菜であり，野菜に含まれる硝酸濃度に上限値を設ける場合もあり，ドイツではホウレンソウで2000 mg・kg⁻¹，オランダでは季節によって2500～4500 mg・kg⁻¹，オーストリアでは2000～3000 mg・kg⁻¹，ロシアでは2000～3000 mg・kg⁻¹を設定している(孫・米山，1996)．日本でも北海道で3000 mg・kg⁻¹とする目標値を設定している(目黒ら，1991)．

シュウ酸については，有機酸の一種として硝酸の還元に伴って生成され，植物体内でのイオンバランスを整える機能が示唆されている(Sugiyama・Okutani，1996；杉山・広岡，1992)．植物によって主に蓄積される有機酸の種類が異なり，ホウレンソウやビートなどでは主にシュウ酸が蓄積される．主要な生成経路はアスコルビン酸から分解される経路である(米山ら，1992)．生成にはグリオキシル酢酸加水分解酵素とオキザロ酢酸加水分解酵素などが関与するが，シュウ酸分解にかかわる酵素であるシュウ酸脱炭酸酵素の活性が生成に関与する酵素の活性より弱いため，シュウ酸が蓄積され

ると推定される（人見ら，1992）．サトイモには針状のシュウ酸カルシウムの結晶として存在し，えぐ味の原因となっている（中西ら，1982）．ホウレンソウでもシュウ酸はえぐ味の原因といわれているが，ホウレンソウに含まれるシュウ酸濃度と食味との関係は明確ではなく（和泉，1998；和泉ら，2005，2008；山田ら，1999），堀江・伊藤（2006）は別の成分による可能性を示唆している．また，尿路結石の要因となることや，カルシウムの吸収を妨げることも指摘される（Fincke・Sherman, 1935；香川，1997；Libert・Francesielli, 1987）．しかし，人体の尿中のシュウ酸のおよそ60～86％が内因性のものであり，食品からの摂取を上回ることも報告されている（荻野ら，2001）．

このように，硝酸およびシュウ酸は，人がホウレンソウから通常摂取する程度では，直ちに悪影響がでる成分ではないが，広く知られているために忌避される一因ともなっている．また，生鮮での摂取のほかに，ジュースなど濃縮して使用する場合には，より高濃度になる可能性について加工業者から危惧されることが多い．

ホウレンソウは生鮮での利用のほかに，ジュース用，また中食の需要が高い．これらの加工・業務用途には価格の安い輸入ホウレンソウを利用することが多いが，近年は加工・業務用途に国産の野菜を求める動きがあり，その生産は増加傾向にある（農林水産省，2013）．業務加工用途には，冷凍品，給食，それに中食などがある．そのうち中食は，店舗で調理済み食品を購入し，自宅で食べる食事

体系のひとつであり，調理直後に食する家庭での調理とは異なり，調理されてから店舗に陳列され消費者の手に渡るまでに相応の時間が経過することが常である．その過程において，ホウレンソウなどでは時間経過による色の変化が問題視されている（原，2014；大久保，1988）．植物に含まれる緑色の元になるクロロフィルは，熱や光によって分解され黄褐色のフェオフィチンへと変化し，緑茶の水色は時間の経過とともに顕著に変化することからよく調べられている（木幡ら，2004）．ホウレンソウなどでは加熱直後は鮮やかな緑色を呈するが，時間の経過とともに色が濁ってくる．ホウレンソウではコマツナなど他の葉菜類より葉色の変化が大きく，その要因として葉内のpHが低く，クロロフィルの安定性が劣ることが指摘されている（倉田ら，1992；大久保，1988）．クロロフィルの分解の抑制には，pHの低下を抑制するために薬品を使用する方法などがあるが（藤田，2000；原，2014；山内・執行，2008），添加コストや食味に影響を与えることが懸念される．

これらの成分や調理後の外観形質は，農業生産に直結する課題ではないため，民間企業の育種現場では従属的な育種目標とされ，本格的な育種は行われてこなかった．さらに硝酸やシュウ酸は環境によって非常に変動が大きい成分であり，生育速度の影響も考慮する必要があることから育種素材の選定が煩雑なことも影響している（Kaminisi・Kita，2006）．

また，ホウレンソウは長日条件下で抽だいが促進される長日植物

であり、花芽が形成された後に茎が伸長し抽だいする(香川, 1997)。原産地から緯度が高く日長が長いヨーロッパに伝播し改良された西洋種は抽だいに14~16時間以上の日長を必要とするが、中国などの冬季栽培用として改良された東洋種では13時間程度で抽だいする(香川, 1997)。日長が同じ場合は、光強度が強いほど抽だいに与える影響が大きい(Parlevliet, 1967)。このように、抽だには長日の影響が大きい、花芽分化には日長の影響は少ないことが報告されている(山川, 2003)。また、抽だいは長日よりも寄与は小さいが低温でも促進され(中村, 1954; Vlitos・Meudt, 1955)、香川(1956)は花芽分化促進には種子のバーナリゼーションによる影響も大きく、その作用は品種の持つ本来の日長反応の幅を変更するものであると報告している。加えて、抽だにはジベレリンが重要な役割を持つと考えられている(Metzger and Zeevaart, 1982; Zeevaart, 1971)。現在は、西洋種と東洋種の交雑により多様なF₁品種が育成され、季節および栽培地域に応じた多数の品種の使い分けによって周年供給が行われている。しかし、都市近郊農業などでは、本来長日ではない季節に街路灯などの夜間照明の影響を受け早期抽だいが起こることが知られている(高尾, 1994)。晩抽性品種ではこのような影響は受けにくい、11月播種では抽だいの早い品種より生育が遅く収穫まで日数を要し(高尾, 1998)、周年で晩抽性品種を用いることは生産性の面から難しい。東北地域や温暖地の高地などで冬季に「寒締め栽培」と呼ばれる作型の導入がすすめら

れ、この作型は低温によって栄養価が高まるなど品質が優れる利点がある一方（加藤ら，1995；岡田ら，2005），品種によっては生育遅延が生じ出荷サイズに至らないという問題点を抱えている．冬季の生育は「低温伸長性」と言われ，ハウレンソウでは秋播き以降の品種に求められる重要な特性の一つである．低温伸長性の高い品種は主に日長の短い時期に栽培されるため，抽だい性は考慮されておらず，天候不順による秋口の低温や播き遅れ，前述の夜間照明の影響により，収穫適期前に早期抽だいしてしまう危険がある．

本研究は、これまでのハウレンソウの育種においては焦点があてられていなかった形質に着目し，第1章ではシュウ酸および硝酸含量について検定法の開発を試み，環境要因との関連性並びに品種間差を調査し，育種的低減化の可能性を探った．第2章では調理後の葉色の保持について品種間差異を明らかにし，その機構について解析した．さらに，第3章では低温期の伸長性の品種間差異に焦点をあて，低温伸長性について日長との関連性を明らかにすることを試みた．

第 1 章 ホウレンソウのシュウ酸含量および硝酸含量の 育種的低減化

序論

ホウレンソウは日本において周年栽培が確立されており、生産量も多く、含まれる栄養成分の豊富さからも重要度の高い野菜である。しかし、一方でシュウ酸および硝酸等の好まれない成分も多く含まれている(香川, 1997; Elia ら, 1998)。いずれもホウレンソウの通常消費量ではこれらの成分による影響があるとは考えにくい。しかし、ホウレンソウに含まれるシュウ酸や硝酸の悪影響のイメージは根強くなっている。また、ジュース原料などに用いられる場合には成分が濃縮されるため、より不安視されることがある。ホウレンソウに含まれる両含量については、生育ステージや栽培条件、生成過程などについてこれまでに多くの報告がなされている(Bakr ら, 1997; 藤原ら, 1999; 人見ら, 1992; 加藤ら, 1996; 木下ら, 1988; 清田ら, 1996; 松本ら, 1999; 中本ら, 1998; Sugiyama ら, 1999; 建部ら, 1995ab; 刃根・内山, 1989ab; 吉川ら, 1988)。

硝酸含量は、窒素施肥量の低減や水耕栽培の利用により栽培面では減少の方策が提示されている(岡崎ら, 2006; 建部ら, 1995b; 安田ら, 2004)。シュウ酸含量は硝酸ほど栽培環境をすぐに反映せず、土耕栽培での安定した低減は難しいのが現状である。シュウ酸

は植物体内で硝酸体窒素の還元にもなって生成され、体内に蓄積されることが示唆されている（杉山・広岡，1992）。シュウ酸の栽培条件による低減が硝酸ほど容易でない原因は、栽培によって蓄積されたシュウ酸がすぐに代謝されないためであると考えられる。低シュウ酸の育種を目的としたまとまった報告は香川らによる一連の研究がある（香川，1990；香川・太田，1997；太田・香川，1992，1996）。これらの研究の中で、東洋種は西洋種に比べてやや高含量で、雌株と雄株には含量差がないことを述べている。しかし、品種間差が安定しないことから、交雑育種での試みは断念し、突然変異体による作出を試みている。本章では、シュウ酸および硝酸含量の低減化を目的として、両含量に関する知見の集積と選抜を試みた。

試験 1 リーフディスク法によるシュウ酸および硝酸含量の測定

ハウレンソウのシュウ酸は葉身部で多く、葉柄部で少なく、また硝酸はその逆に葉柄部で多く、葉身部では少なく、新しい葉より古い葉に多いことが報告されている（亀野，1990；香川，1991）。そのため、葉身と葉柄の比率や新葉と古葉の比率が株全体のシュウ酸および硝酸含量に影響を与えていることが推察される。遺伝的に含量の低い品種の選定を目的とした場合、シュウ酸や硝酸の合成や代謝に関わる遺伝的な差異と、生育速度や葉柄の長短といった生理・生態特性に関わる遺伝的な差異を分けて考えなければならない。そ

のため，陶山ら（1996）は，株全体を用いる測定ではなく，リーフディスクを利用した品種の比較をシュウ酸含量について行っている．本試験では，シュウ酸だけでなく，硝酸含量へのリーフディスク法の適用性について検討した．さらに栽培温度が変化しても適用できるかについても検討を行った．株全体を用いた測定方法では後代の採種が不可能なため，リーフディスク法による評価法の確立は育種を進めるうえで有効である．

材料および方法

1. 材料および栽培方法

固定品種‘若草’，東洋種系の F₁ 品種‘アクティブ’，西洋種系の F₁ 品種‘シャイアン’の 3 品種を供試した．催芽した種子を 2002 年 10 月 3 日に 18 cm ポットに播種した．栽培は，岩手県盛岡市の東北農業研究センター内にある自然光型温度勾配実験施設（グラディオトロン）を使用した．本施設には南北方向におよそ 6 °C の安定したゆるやかな温度勾配があり，温度差に伴う植物の反応が調査できる．グラディオトロン内の南北方向に等間隔になるよう 5 か所に各品種 15 ポットずつ配置し，温度の高い南側から 1～5 区の栽培区とした．収穫はハウレンソウの通常の出荷サイズである全長が 20～25 cm となる時期に，品種・区ごとに地上部全体を刈り取り，株重，全長，葉重を測定した．また，葉ごとに後述するリーフディ

スクによりシュウ酸含量および硝酸含量を測定した。

また、硝酸含量は一日の内でも含量が変動することが報告されていることから（杉山ら，1984），サンプリングは午前 8 時半～10 時の間に行った。これは以降のすべての試験において同様である。含量は、生育日数の違いや土中の水分量の差異，残存肥料の影響も受けるため，同一試験の比較対照は同日に採取したサンプルで行った。

2. 株重の測定

地上部を地際で刈り取り，各品種・各栽培区ごとの 11～15 株について，株ごとに新鮮重を測定した。

3. 全長の測定

各品種・各栽培区ごとの 11～15 株について，株ごとに最大葉の葉身と葉柄を合わせた長さを測定した。

4. 葉重の測定

各品種・各栽培区ごとの 4 株について，黄変，脱落した葉を除いた展開葉を出葉した順に第 1 葉，第 2 葉とし，葉ごとに重さを測定した。なお，子葉および初生葉は除外した。

5. シュウ酸含量および硝酸含量の測定

各品種・各栽培区ごとの 4 株について，展開葉ごとに太い葉脈を避けた葉身の中央部から直径 1 cm のリーフディスクを 4 枚打ち抜き－30℃で凍結したものを葉身のサンプルとした。展開葉のサイズにより，4 枚取れない場合は，適宜，ディスクの枚数を減らした。

両含量の測定は Kawazu ら（2003）の方法にしたがい，凍結サンプルに 2 N 塩酸を 1 ml 添加し，数秒振とう後，20 °C で 12 h 以上静置し総シュウ酸を抽出した．蒸留水で 100 倍希釈後，0.45 μ m のメンブレンフィルターでろ過したろ液を抽出液とし，定量は高速液体クロマトグラフィーで行った．カラムは Shodex IC I-524A を用い，温度 45 °C，送液速度 1.2 ml \cdot min⁻¹，溶離液には 1.85 % ホウ酸，0.025 % フタル酸，0.017 % トリスヒドロキシアミノメタンを用いた．また，葉柄のシュウ酸含量は，展開葉ごとに葉柄の中央部を 1 cm 切り取り -30°C で凍結したものをサンプルとし，葉身と同様の方法で含量の測定を行った．

結果および考察

1. 生育

栽培期間（2002 年 10 月 3 日～2004 年 2 月 6 日）中のグラディオトロン内の日平均気温を図 1-1 に示した．期間を通した栽培区ごとの平均気温は，1 区で 14.1 °C，2 区では 12.9 °C，3 区で 10.9 °C，4 区で 9.2 °C，5 区では 8.3 °C であった．品種および栽培区ごとの収穫日と各形態形質の測定結果を表 1-1 に示した．生育は，極早生で秋播き品種である‘若草’が最も早く，晩抽性の夏播き品種である‘アクティブ’より 1 か月以上早く収穫サイズに達した．‘シャイアン’は生育が遅く，伸長が停止したように見えたため，当初の

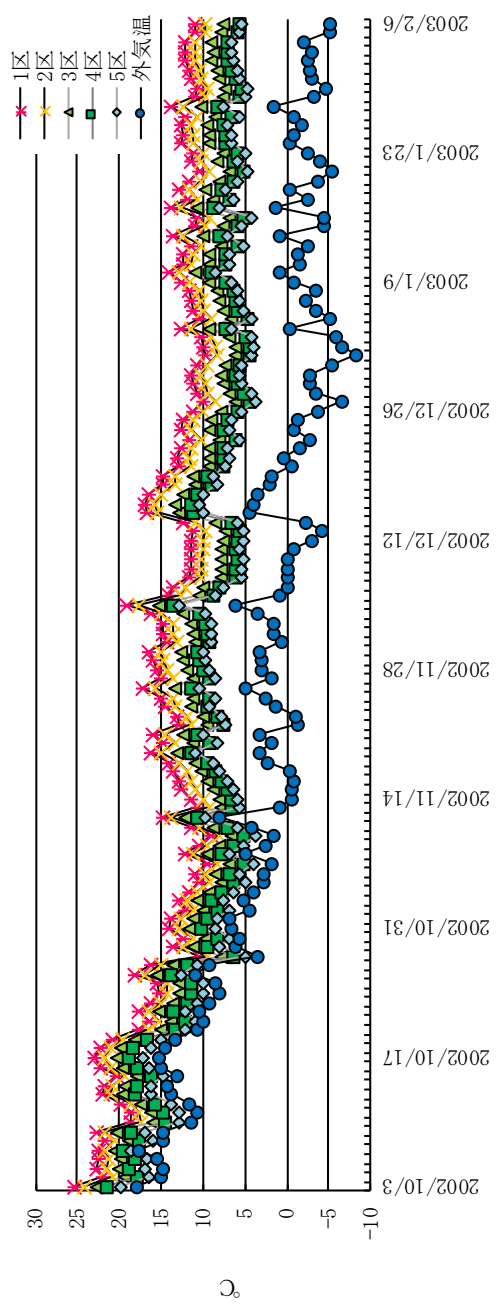


図1-1 栽培期間中の栽培区および外気の日平均気温
地上1m地点における計測値

表1-1 温度勾配温室におけるハウレンソウの生育

品種名	栽培区 ^z	収穫日	株数	株重 ^x	展開葉数		全長
			(株)	(g)	(枚)	(cm)	
若草	1区	12/4	11	27.0 ± 2.7 a ^y	16.3 ± 0.6 a	23.3 ± 1.0 ab	
	2区	12/5	15	28.9 ± 2.1 a	16.0 ± 0.7 a	22.0 ± 0.9 ab	
	3区	12/9	15	23.9 ± 1.9 ab	13.5 ± 0.4 bc	21.6 ± 0.8 a	
	4区	12/6	15	25.7 ± 1.8 a	12.7 ± 0.5 bc	23.1 ± 0.6 ab	
	5区	12/18	15	33.6 ± 3.1 ac	14.7 ± 0.7 ac	25.1 ± 1.0 b	
アクティブ	1区	1/22	15	66.5 ± 6.0 n. s.	26.4 ± 1.0 a	22.1 ± 0.7 n. s.	
	2区	1/27	15	62.7 ± 4.7	26.8 ± 1.3 a	19.5 ± 0.7	
	3区	1/21	15	60.4 ± 4.1	21.3 ± 0.8 b	22.2 ± 0.8	
	4区	1/17	15	56.3 ± 6.9	18.1 ± 0.5 b	22.0 ± 1.0	
	5区	1/24	15	60.8 ± 3.4	19.4 ± 0.6 b	21.9 ± 0.6	
シャイアン	1区	2/3	15	59.6 ± 5.0 n. s.	26.8 ± 0.7 a	15.3 ± 0.5 n. s.	
	2区	2/4	15	57.3 ± 3.1	26.2 ± 0.5 a	15.3 ± 0.2	
	3区	2/5	14	56.6 ± 4.4	24.3 ± 0.8 a	15.1 ± 0.4	
	4区	2/6	15	60.0 ± 4.9	21.6 ± 0.6 b	16.0 ± 0.7	
	5区	2/7	15	52.3 ± 3.8	20.4 ± 0.6 b	16.3 ± 0.4	

^z 栽培区は温度が高い順に1区～5区とした。1区～5区の間には約6℃の気温差あり。

^y 品種ごとにTukey-Kramer分析で異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり, n. s. は有意差なし

^x 数値は平均値±標準誤差

基準である全長 20～25 cm よりやや短い時点で収穫を行った。本品種は極晩抽性の盛夏播き品種のため、冬季の栽培では、伸長性が劣っていたと考えられる。

2. 部位および葉位による差異

葉位ごとのシュウ酸および硝酸含量を図 1-2 に示した。いずれの品種も葉身ではシュウ酸の含量が多く、葉柄では硝酸の含量が多い結果となり、これまでの報告と一致した(奥谷ら, 1992ab)。葉位ごとにみると、葉位が低い外葉で両含量ともに高く、葉位の進んだ新葉では低くなった。展開葉の葉重は、第 1～10 葉までで株全体の約 60% (データ略) を占めており、両含量ともに外葉の含量が高いことから、株全体における両含量の高低はシュウ酸では主に葉身の 1～10 葉までの含量の高低に、硝酸では主に葉柄の 1～10 葉までの含量の高低に影響されると考えられる。葉身のシュウ酸含量では、二元配置による分散分析において、1～10 葉までの葉位と栽培区(温度)との交互作用は 5% 水準で有意差がなく、葉位による変化には温度による影響は見られなかった。1～10 葉までの葉柄の硝酸含量では、葉位と温度の間に‘若草’では交互作用は見られなかったが、‘アクティブ’および‘シャイアン’では、葉位と温度の間に 5% 水準で交互作用が見られた。栽培区ごとの葉身のシュウ酸含量および葉柄の硝酸含量を表 1-2 に示す。品種間差異をみてみると、シュウ酸含量は 2 区および 3 区で‘アクティブ’が‘シャイアン’より

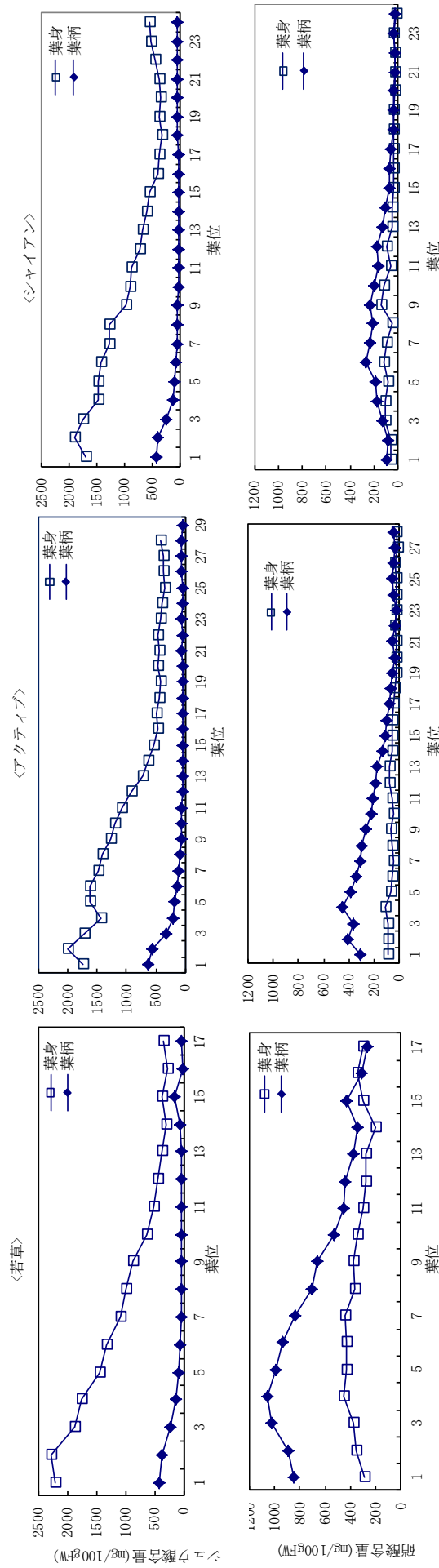


図1-2 シュウ酸および硝酸含量の葉位による変化 (図左: '若草', 中央: 'アクテイブ', 右: 'シヤイアン')
 それぞれの含量は、栽培区1~5の平均値で示した

表1-2 品種および栽培区ごとの葉身のシユウ酸含量および葉柄の硝酸含量

	1区		2区		3区		4区		5区	
葉身のシユウ酸含量 (mg/100gFW) ^z										
若草	1816.4 ±	75.2 n. s. ^y	1534.7 ±	154.0 ab	1373.0 ±	65.5 ab	1331.4 ±	31.3 n. s.	1128.7 ±	168.6 n. s.
アクテイブ	1529.4 ±	226.8	1724.0 ±	106.2 a	1648.2 ±	70.6 a	1481.3 ±	94.2	1377.3 ±	147.2
シヤイアン	1456.9 ±	57.6	1249.6 ±	59.0 b	1344.3 ±	88.4 b	1430.3 ±	54.5	1587.3 ±	146.0
葉柄の硝酸含量 (mg/100gFW)										
若草	1014.4 ±	99.5 a	1037.2 ±	72.0 a	701.8 ±	87.9 a	750.7 ±	26.9 a	739.8 ±	89.9 a
アクテイブ	292.6 ±	82.2 b	163.0 ±	67.2 b	440.5 ±	32.0 b	346.5 ±	72.1 b	431.3 ±	68.1 b
シヤイアン	133.9 ±	43.4 b	197.3 ±	50.9 b	155.9 ±	17.0 c	196.6 ±	19.2 b	228.5 ±	15.3 b

^z 葉身のシユウ酸含量は1～10葉の葉身の平均、葉柄の硝酸含量は葉柄の1～10葉の平均で示した(平均±標準誤差)

^y 栽培区内でTukey-Kramer分析で異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり、n. s.は有意差なし

品種内では、Tukey-Kramer分析により、若草'の葉身のシユウ酸含量が1区と5区の間で5%水準で有意差あり。その他の品種および含量では有意差なし

有意に高かったが，その他の区では有意差はなかった．一方，硝酸含量はいずれの区においても‘若草’は，‘アクティブ’および‘シャイアン’より有意に高かった．この原因として，ポット栽培のため，栽培期間が長い2品種では培土からの硝酸体窒素の吸収が少なくなり，それに対して植物体内における硝酸代謝がすすむためと考えられ，一方，シュウ酸については植物体内で代謝されにくいため，含量が高いままであると推察された．

葉身のシュウ酸含量と葉柄の硝酸含量について，それぞれ1～10葉の平均と，葉位ごとの値との相関関係を見たところ，葉身のシュウ酸含量では葉位によって $r=0.35\sim 0.67$ ，葉柄の硝酸含量では $r=0.77\sim 0.95$ の正の相関があった(1%水準で有意)．1～10葉のうち，葉身および葉柄で特に相関係数が高かったのは第5葉であり，5葉を除く1～10葉の平均との相関は，シュウ酸含量では $r=0.66$ ，硝酸では $r=0.93$ と1%水準で有意な正の相関となり(図1-3)，第5葉の含量を株全体の含量の選抜の目安として用いることができると考えられた．また，第5葉における葉身と葉柄のシュウ酸含量および硝酸含量の関係を図1-4に示した．シュウ酸含量，硝酸含量ともに，葉柄の含量と葉身の含量は1%水準で有意な正の相関があった．しかし，シュウ酸については両部位の含量の相関は $r=0.46$ と硝酸含量の相関($r=0.86$)より低く，その原因として前述のように葉柄におけるシュウ酸が低含量であることが考えられた．第5

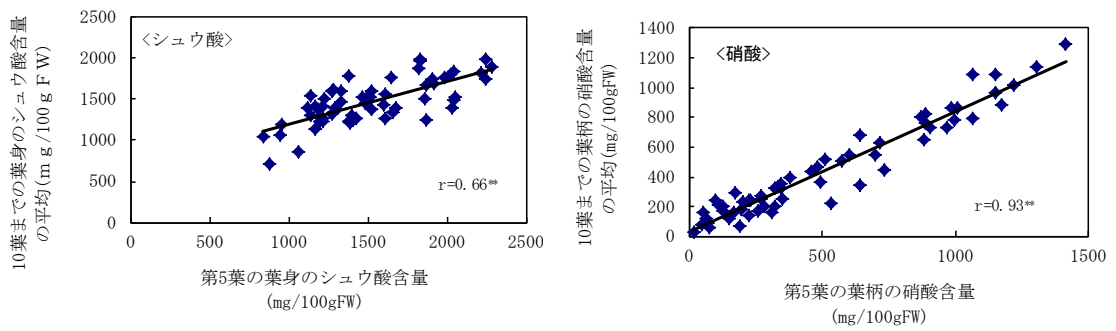


図1-3 10葉までの平均と第5葉のシュウ酸・硝酸含量の関係
 全品種・全栽培区の第5葉を除いた1~10葉の平均値と第5葉の含量を用いた
 (左:シュウ酸含量 右:硝酸含量)
 **は1%水準で有意に相関あり

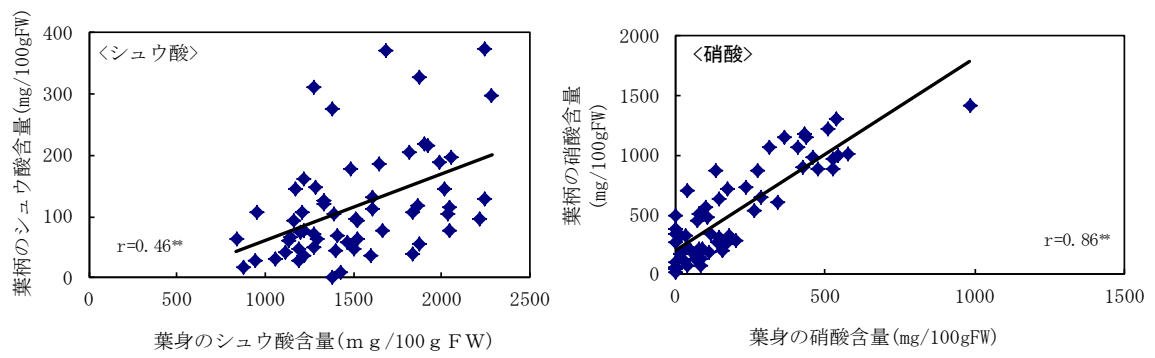


図1-4 第5葉の葉身と葉柄のシュウ酸・硝酸含量の相関図

(左：シュウ酸含量 右：硝酸含量)

**は1%水準で有意に相関あり

葉の葉身の硝酸含量と，1～10葉（第5葉を除く）の葉柄の硝酸含量の平均とは， $r=0.84$ の高い相関があった（図1-5）．これらのことから，葉身のリーフディスク法を用いることで，株全体のシュウ酸含量および硝酸含量の比較が可能であると考えられた．また，株によって葉位は異なるが，全長が最も長い葉（最大葉）の葉身のシュウ酸含量と，1～10葉（最大葉を除く）の葉身のシュウ酸含量の平均とは $r=0.42$ ，最大葉の葉柄の硝酸含量と1～10葉（最大葉を除く）の葉柄の硝酸含量の平均とは $r=0.90$ といずれも1%水準で有意な相関が見られた．第5葉の相関よりは低いですが，葉位の特定が不要であり瞬時に判断できる最大葉を用いて比較することも可能であった．以上のように，リーフディスク法による両含量の同時測定は，多数個体を簡便に扱え，後代も得られることから，育種の初期世代の選抜において有用な手法である．

試験2 ホウレンソウのシュウ酸および硝酸含量におよぼす温度の影響

シュウ酸および硝酸含量は，栽培時期や栽培年度により，同一品種でも含量の変動が大きく，品種間差が安定しておらず，施肥量や生育速度に影響されることが報告されている（Kaminishi・Kita, 2006; 杉山・広岡, 1992）．本試験では，温度が両含量に与える影響を環境制御下で調査し，温度に対する詳細な知見を得ることを目

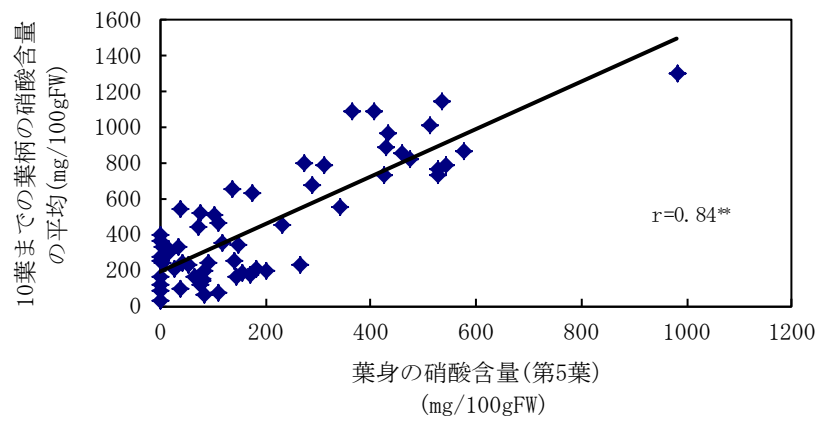


図1-5 第5葉の葉身の硝酸含量と10葉までの葉柄の硝酸含量の平均との関係□
 全品種・全栽培区の第5葉の含量と第5葉を除いた1～10葉の平均値とを用いた
 **は1%水準で有意に相関あり

的とした。

材料および方法

1. 材料および栽培方法

試験 1 で用いた ‘若草’, ‘アクティブ’, ‘シャイアン’ に加えて, 市販の F₁ 品種の中から ‘イチバ’ (東洋系), ‘ホークス’ (中間系), ‘カルメン’ (西洋系) を供試した。催芽後に 18 cm ポットに播種し, 次の 3 つの温度区を設定した人工気象室内で栽培した。播種から収穫まで昼 21 °C, 夜 16 °C で栽培した 21-16 °C 区, 播種後 11 日間は昼 21 °C, 夜 16 °C で栽培を行った後, 昼 30 °C, 夜 25 °C で 3 週間栽培した 30-25 °C 区, および播種後 35 日間は昼 21 °C, 夜 16 °C で栽培を行った後, 昼 15 °C, 夜 10 °C で 3 週間栽培した 15-10 °C 区である。播種から収穫までの期間は, 収穫時のサイズをある程度揃えるため, 21-16 °C 区で 34 日間, 30-25 °C 区で 32 日間, 15-10 °C 区で 56 日間とした。日長は 11 時間とした。播種は 21-16 °C 区は 2003 年 5 月 30 日, 30-25 °C 区は 6 月 13 日, 15-10 °C 区は 7 月 1 日に行った。各品種・各温度区あたり 10 株を供試し, 株重, 全長, SPAD 値, およびシュウ酸含量と硝酸含量を測定した。

2. 株重および全長の測定

試験 1 と同様に, 地上部を地際で刈り取り, 株ごとに新鮮重および最大葉の葉長を全長として測定した。

3. SPAD 値の測定

収穫前日に各品種・温度区について 4~10 株の最大葉の葉身の中央付近を葉緑素計 (SPAD-502, (株)ミノルタ) で 3 回測定し, 株ごとに平均値を得た.

4. シュウ酸含量および硝酸含量の測定

収穫後, 株ごとに第 4 葉および第 5 葉から, 各 4 枚の直径 1 cm のリーフディスクを打ち抜き, 計 8 枚を 1 サンプルとして測定に供した. 分析は試験 1 と同様に行った.

結果および考察

全長は, 全品種の平均で 15-10 °C 区では 21.2 cm, 21-16 °C 区では 22.5 cm と同程度であり, 30-25°C 区では 18.3 cm と短かった (1% 水準で有意). 株重は, いずれの品種でも栽培期間の後半が低温であった 15-10 °C 区で有意に増加した (図 1-6). 15-10°C 区では, 葉長を揃えるために栽培期間が最も長かったため, 展開葉数も他の温度区より顕著に多くなったこと (達観による) が原因と考えられた. さらに, 低温下において糖が蓄積することが知られているため (青木, 2004), そのことも株重が増加した一因と考えられる. 前述の試験 1 では, 気温の高い 1 区の方が気温の低い 5 区より展開葉数が多くなっており (表 1-1), 今回の結果とは反対となった. これは, 栽培期間の温室内の平均気温が, 試験 1 では 1 区で 14.1 °C,

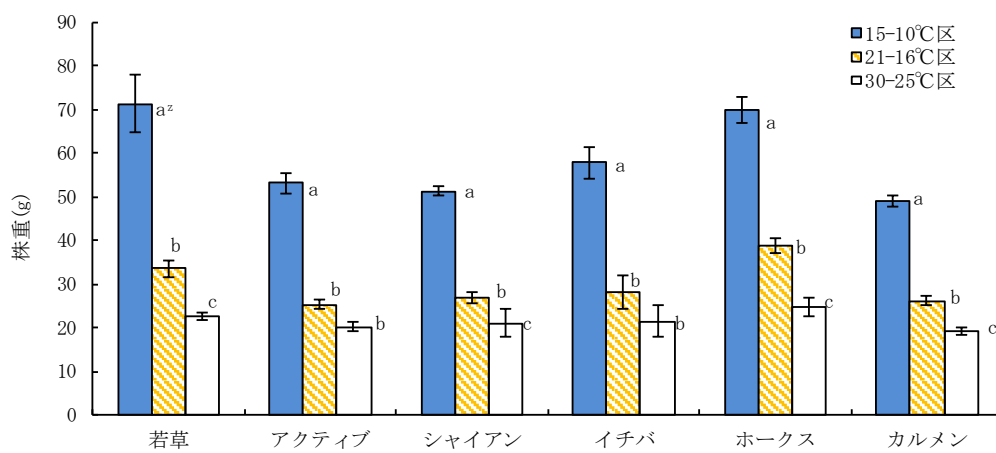


図1-6 温度による株重の変化

バーは標準誤差を表す

² 品種ごとにTukey-Kramer分析で異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり

温度区ごとでは、15-10°C区、21-16°C区、30-25°C区の各区間において1%で有意差あり

5区で8.3℃となり，試験2で最も低温の15-10℃区と試験1で最も高温の区が同程度の気温であったため，試験1で最も低温である5区では葉が展開するには温度が低すぎたためと推察された．30-25℃区の株重の全品種の平均値は最も低く21.6gであった．ホウレンソウは低温性の植物であり，高温では生育が抑制される傾向があり（杉山・藤田，1996），30-25℃区で株重が軽くなった原因と考えられる．また，30-25℃区は栽培温度の変更後，3週間での収穫としたため，21-16℃区よりも2日間栽培期間が短くなり，葉長の伸長を待たずに収穫したことも一因と考えられる．

葉身のシュウ酸含量について調査したところ，全品種の平均は，15-10℃区で290.2 mg・100 gFW⁻¹，21-16℃区では362.4 mg・100 gFW⁻¹，30-25℃区では650.2 mg・100 gFW⁻¹となり，温度が高くなるほど有意に増加した（5%水準で有意）．シュウ酸の温度区による差異を各品種内で見たところ，すべての品種で30-25℃区で有意に増加した（図1-7）．一方，‘ホークス’および‘カルメン’を除く4品種は，15-10℃区で最も低い含量を示した．加藤ら（1995）は，極低温下において株全体のシュウ酸含量が減少することを述べているが，今回の結果からは，10-15℃程度の緩やかな低温下でも含量の低下が認められることが明らかとなった．株全体で温度変化における両含量を見た場合，生育差による葉身・葉柄の比率も両含量に影響を与えている．葉身・葉柄の比率の影響を受けないリー

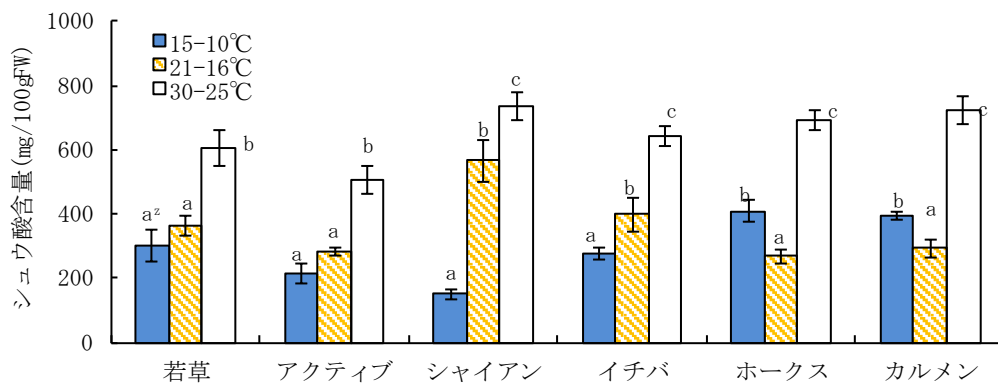


図1-7 温度によるシュウ酸含量の変化(温度区の比較)

葉身の第4葉および第5葉を用いた

^z 品種ごとにTukey-Kramer分析で異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり

フディスクにおいても，温度によって含量が変化することから，シュウ酸の生成・代謝も温度に影響されていると考えられた．温度区ごとに品種間差をみると，15-10℃区では‘シャイアン’の含量が最も低かったが，21-16℃区では‘シャイアン’が有意に高く，30-25℃区でも最も高くなった(図 1-8)．また，‘アクティブ’はいずれの温度区でも含量が低い傾向にあった．しかし，全温度区を合わせた品種ごとの平均値では，いずれの品種間においても有意な差はなかった．

次に，葉身の硝酸含量について調査したところ，すべての品種で15-10℃区で最も低く，30-25℃区で最も高かった(図 1-9)．各温度区における全品種の平均を見ると，15-10℃区で $20.8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ gFW}^{-1}$ ，21-16℃区では $74.9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ gFW}^{-1}$ ，30-25℃区では $180.4 \text{ mg} \cdot 100 \text{ gFW}^{-1}$ となり，温度が高くなるほど有意に増加した(1%水準で有意)．含量が低温区で低く，高温区で高くなることはシュウ酸含量と同様の結果であった．温度区ごとに品種間差をみると，‘カルメン’が30-25℃区では有意に高く，15-10℃区と21-10℃区においても最も高かった(図 1-10)．また，‘ホークス’は21-16℃区で含量が有意に低かった．しかし，全温度区を合わせた品種ごとの平均値では，いずれの品種間にも有意な差はなかった．

SPAD値は，‘若草’を除きいた5品種において15-10℃区で高く，30-25℃区では低かった(図 1-11)．SPAD値とシュウ酸含量および

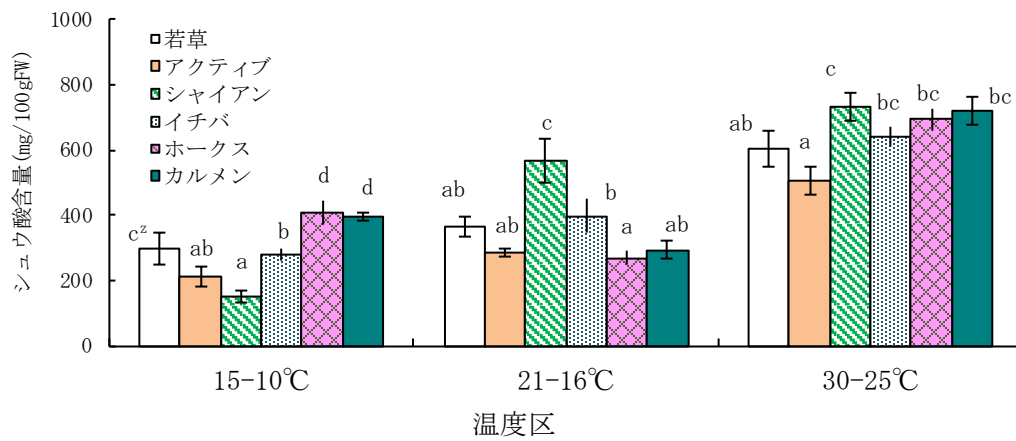


図1-8 温度によるシュウ酸含量の変化(品種の比較)

第4葉および第5葉を用いた

^z 温度区ごとにTukey-Kramer分析で異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり

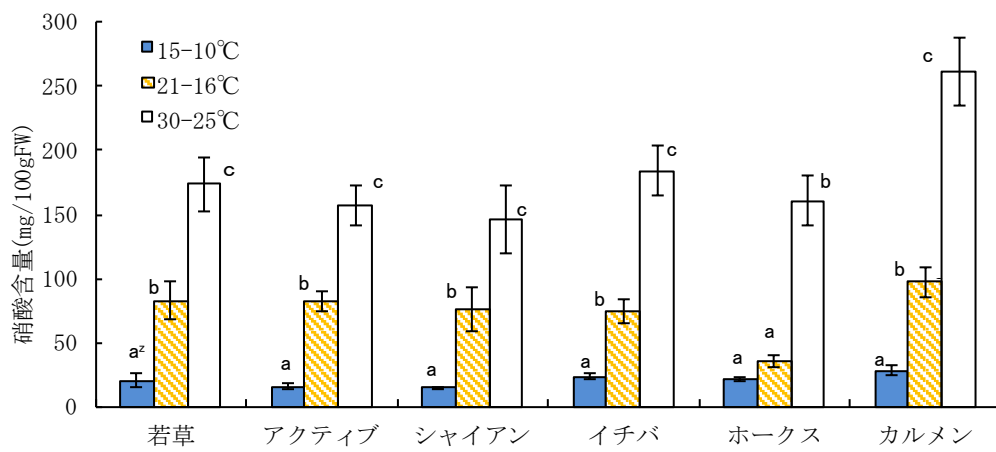


図1-9 温度による硝酸含量の変化（温度区の比較）

葉身の第4葉および第5葉を用いた

^z 品種ごとにTukey-Kramer分析で異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり

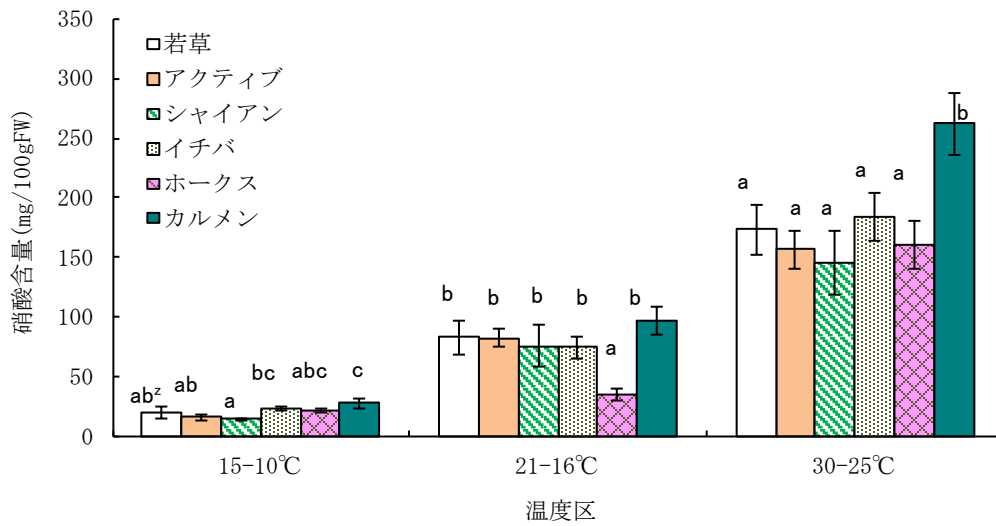


図1-10 温度による硝酸含量の変化(品種の比較)

^z 品種ごとにTukey-Kramer分析で異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり

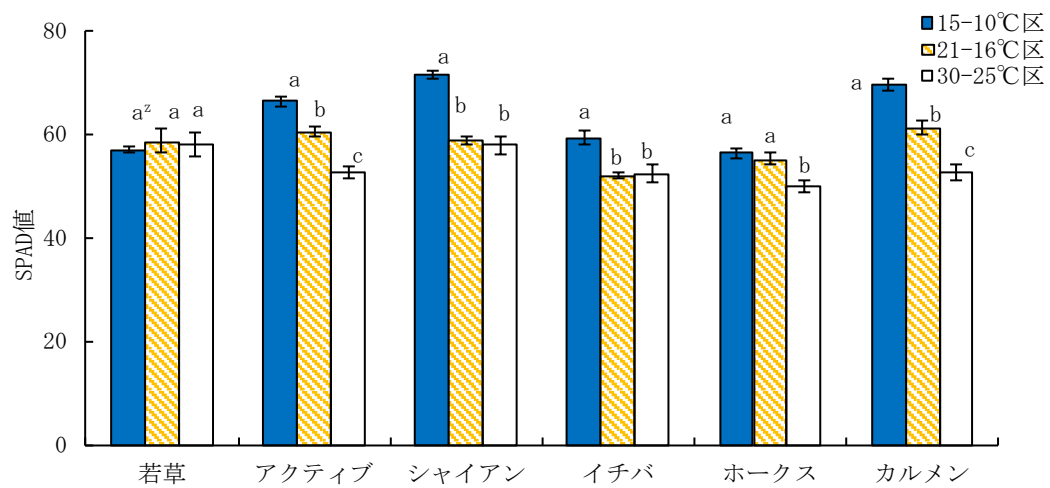


図1-11 温度区によるSPAD値の変化

^z 品種ごとにTukey-Kramer分析で異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり

硝酸含量の関係を図 1-12 に示した。シュウ酸含量との関係は、全品種・全温度区(株ごと)では $r = -0.35$ 、硝酸含量では $r = -0.29$ でそれぞれ 1% 水準で有意な負の相関があった。しかし、温度区ごとにみると、シュウ酸含量では 15-10 °C 区で $r = -0.32$ と 5% 水準で有意な相関があったが、21-16 °C 区および 30-25 °C 区では有意な相関はみられなかった。硝酸含量については、21-16 °C 区で $r = 0.36$ と 1% 水準で有意な正の相関があり、全温度区での負の相関と一致しなかった。一方、15-10 °C 区および 30-25 °C 区では有意な相関はなかった。これらのことから、SPAD 値とシュウ酸含量および硝酸含量には関係があるがように見えるが、実際には無関係であると推察された。そのため、SPAD 値から両含量の品種間差を推定して比較することはできないと考えられる。藤原ら(2005)は量販店より年間を通じて購入した市販ハウレンソウにおいて SPAD 値と硝酸含量に負の相関があるとしたが、同時期の栽培でかつ施肥状況も同じ場合は、SPAD 値は含量を反映しないと考えられた。

試験 3 シュウ酸含量および硝酸含量に関するスクリーニング

これまでの研究からシュウ酸含量および硝酸含量には、品種間差は見られるが年次変動や季節変動により、通年で安定した含量の品種は認められていないことが報告されている (Kawazu ら, 2003; Kaminishi・Kita, 2006)。前述の試験 2 から、温度によってハウ

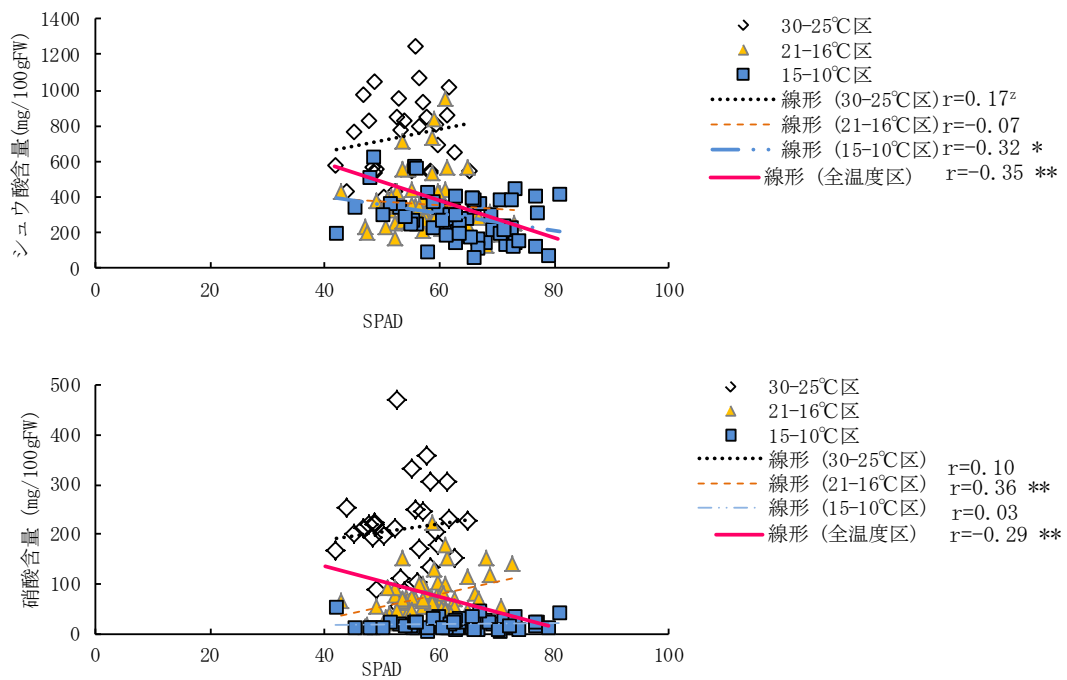


図1-12 SPAD値とシュウ酸含量および硝酸含量との関係
(上：シュウ酸含量 下：硝酸含量)

^z 相関係数rについて、*は5%水準で有意、**は1%水準で有意

レンソウのシュウ酸含量および硝酸含量は変動し、品種と温度には交互作用があることが明らかとなった。そのため、両含量について選抜を行う場合、同一の栽培条件において比較を行う必要があると考えられる。東北地域は夏秋期のハウレンソウ栽培が盛んであること、シュウ酸含量および硝酸含量は高温期で高く、低温期で低くなることから、本試験では、高温期の栽培条件において両含量が低い品種・系統の選定と選抜を試みた。

材料および方法

1. 材料および栽培方法

日本の市販品種 22 品種およびジーンバンクで保有する 68 系統の計 90 品種・系統を供試した(表 1-3)。2002 年低シュウ酸用素材検索には、これまでの研究室内のデータ(川頭ら, 2002)からシュウ酸含量が低い可能性がある素材として 15 品種・系統(No. 1~15)を供試した。2002 年低硝酸用素材検索についても、これまでの研究室内のデータから、硝酸含量が高いあるいは低い可能性がある 18 品種(No. 16~31)を供試した。2002 年および 2003 年の低シュウ酸および低硝酸用素材検索には、新たに秋田県立大学三吉教授および USDA より導入した 59 系統(No. 32~90)を供試した。これらの品種・系統を栽培時期が高温となる 5 月~8 月上旬に播種を行った。新たに導入した系統については、種子量が少なく、早晚性に関

表1-3 シュウ酸含量および硝酸含量に関するスクリーニング(葉身の含量^{*)})

No.	品種・系統名 [†]	株数	シュウ酸含量 (mg/100gFW)	硝酸含量 (mg/100gFW)	株数 (2回目)	シュウ酸含量 (mg/100gFW)	硝酸含量 (mg/100gFW)	備考(系統名、原産国、導入元)
2002年シュウ酸用素材検索(1回目)								
1	晩抽バルク	24	900 ± 45	-	28	921 ± 29	229 ± 16	
2	リパテイー	28	1160 ± 37	-	19	903 ± 32	141 ± 14	
3	シャイアン	25	899 ± 39	-	25	901 ± 58	176 ± 16	
4	次郎丸	4	1096 ± 31	-	28	1217 ± 34	177 ± 11	
5	マジック	24	927 ± 33	-	24	949 ± 112	240 ± 23	
6	若草	-	-	-	22	1411 ± 37	255 ± 13	
7	Ch99169	-	-	-	2	1038 ± 136	175 ± 86	Palak India
8	Ch99192	21	1090 ± 45	-	8	1239 ± 36	188 ± 19	不明 Italy
9	Ch99207	5	1240 ± 92	-	13	1250 ± 78	217 ± 19	Harlan 4403 Turkey
10	Ch99211	-	-	-	6	1058 ± 71	116 ± 14	Beledi Syria
11	Ch99212	-	-	-	15	1199 ± 34	142 ± 15	Harlan 9889 Irak
12	Ch99214	-	-	-	16	1285 ± 112	203 ± 27	458 Belgium
13	Ch99215	17	1281 ± 60	-	17	1094 ± 47	221 ± 13	Giant Spinach Belgium
14	Ch99216	3	1155 ± 52	-	13	1226 ± 37	210 ± 16	452 Belgium
15	Ch99272	-	-	-	25	1285 ± 29	199 ± 12	Jiromaru Japan
	平均		1083		平均	1136	197	
2002年硝酸用素材検索(1回目)								
16	イチバ	3	-	161 ± 16	25	-	175 ± 10	
17	アイクル	6	-	218 ± 46	24	-	172 ± 7	
18	アレフ	24	-	246 ± 17	25	-	171 ± 6	
19	モンタナ	11	-	263 ± 22	24	-	168 ± 9	
20	サンチ	10	-	317 ± 26	26	-	166 ± 10	
21	ディンブル	-	-	-	23	-	196 ± 12	
22	カルメン	25	-	309 ± 19	27	-	202 ± 9	
23	剣菱	28	-	224 ± 15	23	-	195 ± 8	
24	バルチック	2	-	331 ± 56	17	-	186 ± 7	
25	強力オーライ	2	-	243 ± 31	24	-	223 ± 14	
26	ハーキュリー	3	-	251 ± 61	25	-	208 ± 7	
27	タイソン	19	-	314 ± 23	26	-	222 ± 8	
28	夏秋理鶴針種	2	-	230 ± 16	22	-	235 ± 11	
29	ホークス	1	-	76	22	-	182 ± 7	
30	リード	2	-	223 ± 53	13	-	204 ± 12	
31	晩抽サイクル	-	-	-	24	-	251 ± 17	
	平均			244	平均		196	

表1-3 続き：シュウ酸含量および硝酸含量に関するスクリーニング(葉身の含量²⁾)

No.	品種・系統名 ¹⁾	株数	シュウ酸含量 (mg/100gFW)		硝酸含量 (mg/100gFW)		株数	シュウ酸含量 (mg/100gFW)		硝酸含量 (mg/100gFW)		備考(系統名、原産国、導入元)
			平均	標準偏差	平均	標準偏差		平均	標準偏差			
2002年シュウ酸および硝酸含量用素材検索												
32	Ch02001	3	1269	± 137	117	± 20	不明					Turkey (Adana)
33	Ch02002	4	1127	± 182	84	± 21	不明					Turkey (Adana)
34	Ch02003	11	931	± 73	134	± 15	不明					Turkey (Adana)
35	Ch02004	12	1070	± 58	151	± 20	不明					Turkey (Adana)
36	Ch02005	11	956	± 55	134	± 18	不明					Turkey (Nevsehir)
37	Ch02006	10	1162	± 76	117	± 21	Mataador					Turkey (Balikesir)
38	Ch02007	17	1045	± 41	140	± 16	不明					Turkey (Balikesir)
39	Ch02008	7	1200	± 114	71	± 18	不明					Turkey (Usak)
40	Ch02009	1	1221		36		Sponza i spanak					Turkey (Izmir?)
41	Ch02010	8	1160	± 32	64	± 19	不明					Turkey (Izmir)
42	Ch02011	6	987	± 56	77	± 22	不明					Turkey (Izmir)
43	Ch02012	7	1171	± 49	49	± 13	不明					Turkey
44	Ch02013	7	1041	± 46	73	± 11	Spanoza					Turkey
45	Ch02014	8	1560	± 63	59	± 13	Viking					Spain
46	Ch02015	-	-		-		MATADOR					Turkey
47	Ch02016	-	-		-		MATADOR					Turkey
48	Ch02017	10	1162	± 43	70	± 10	ISPANAK					Turkey
49	Ch02018	12	1071	± 33	88	± 13	GIGANTE DE INVIERNO					Turkey
50	Ch02019	9	1071	± 41	91	± 16	VIROFLAY					Spain
51	Ch02020	7	1314	± 33	50	± 6	Lagos					France
52	Ch02021	15	1071	± 37	114	± 9	SAMOS					France
53	Ch02022	9	1162	± 66	75	± 10	SPUTNIK					France
54	Ch02023	2	1265	± 86	59	± 15	WOBLI					France
55	Ch02024	-	-		-		GIGANTE DE INVIERNO					Spain?
56	Ch02025	10	1087	± 36	62	± 9	BUTTERFLAY					Spain?
57	Ch02026	6	1121	± 80	105	± 19	Matador fonce					France
58	Ch02027	4	1338	± 96	52	± 3	Geant d'hiver					France
59	Ch02028	10	1139	± 33	104	± 13	Resistoflay					France
60	Ch02029	11	794	± 28	38	± 4	OSEILLE BLONDE DE LYON					France
61	Ch02030	4	1320	± 65	85	± 21	A FIGLIE DI LATTUGA					Spain?
62	Ch02031	16	1212	± 46	148	± 18	MATADOR					Spain?
63	Ch02032	11	901	± 51	103	± 11	IBRID					France
64	Ch02033	16	1335	± 46	120	± 23	RICCIO D'ASTI					France
65	Ch02067	-	-		-		Matador					Turkey
66	Ch02069	16	1038	± 39	113	± 15	Indian Summer Hybrid					USA
67	Ch02070	15	1050	± 55	152	± 19	Bloomdale Longstanding					USA
68	Ch02071	11	1091	± 75	143	± 17	Bloomdale LongStanding					USA
69	Ch02072	13	985	± 60	117	± 13	Melody Hybrid					USA
			1130		94		平均					
-	晩抽パルック	35	373	± 17	120	± -						
-	マジック	21	399	± 17	87	± -						

表1-3 続き：シユウ酸含量および硝酸含量に関するスクリーニング(葉身の含量^z)

No.	品種・系統名 ^y	株数	シユウ酸含量 (mg/100gFW)		硝酸含量 (mg/100gFW)		株数	シユウ酸含量 (mg/100gFW)		硝酸含量 (mg/100gFW)		備考(系統名、原産国、導入元)
			シユウ酸含量	株数	硝酸含量	株数		シユウ酸含量	株数	硝酸含量		
	2003年シユウ酸および硝酸用素材検索											
70	Ch02037	6	940 ± 94	184 ± 112	102 × 99	United States, Maryland	USDA					
71	Ch02039	7	1150 ± 61	135 ± 81	224 × 223	United States, Maryland	USDA					
72	Ch02040	9	1091 ± 48	155 ± 83	BADGER SAVOY	United States, California	USDA					
73	Ch02041	1	1086		VIKING	Sweden	USDA					
74	Ch02042	8	1046 ± 91	157 ± 101	HASTINGS ARAGON	United States, Georgia	USDA					
75	Ch02043	10	1165 ± 36	105 ± 40	ADVANCE	United States, Oregon	USDA					
76	Ch02044	6	1154 ± 42	179 ± 62	DUET	United States, Maryland	USDA					
77	Ch02045	1	1156	200	99 × 95 (DESSERT)	United States, Oregon	USDA					
78	Ch02046	1	1252	125	Yazlik	Turkey, Bursa	USDA					
79	Ch02053	5	1116 ± 59	116 ± 58	Best of All		USDA					
80	Ch02054	6	1219 ± 26	120 ± 43	Stamef		USDA					
81	Ch02055	5	988 ± 124	221 ± 112	PRINCESS JULIANA	Netherlands	USDA					
82	Ch02056	1	1431 ± -	59 ± -	CGN 14185	Egypt	USDA					
83	Ch02057	5	1044 ± 103	172 ± 56	Domasen	Yugoslavia	USDA					
84	Ch02058	8	1030 ± 71	131 ± 51	Samos Hybrid	France	USDA					
85	Ch02059	10	1112 ± 60	136 ± 88	Matares	Netherlands	USDA					
86	Ch02060	8	1202 ± 60	121 ± 39	Nores	Netherlands	USDA					
87	Ch02062	5	1196 ± 80	183 ± 66	498	China	USDA					
88	Ch02063	1	1154	167	499	France	USDA					
89	Ch02064	2	1312 ± 104	129 ± 37	500	China	USDA					
90	Ch02065	5	1427 ± 181	113 ± 62	HEGYKOI	Hungary	USDA					
-	晩抽パルク	9	1142 ± 47	145 ± 69								
	平均		1155	145								
分散分析(一元配置)												
	1~16		** ^x	-								
	17~32		**	**								
	33~70		-	**								
	71~92		-	n. s.								
	平均		**	n. s.								

^z 平均値±標準誤差

^y 系統名は研究室内のID番号(Ch)で記載

^x 分散分析において**は1%水準で有意差あり、*は5%水準で有意差あり。n. s.は有意差なし。
 1~16: 1回目2002年5月17日催芽、20日発芽したものから播種(1区12株3反復)、6月19日収穫。サンプリングは、最大葉と次の葉から各6デイスク(12デイスク/株)
 17~32: 2002年5月17日催芽、20日発芽したものから播種(1区12株3反復)、6月18日収穫。サンプリングは最大葉と次の葉から各4デイスク(8デイスク/株)
 33~70: 2002年7月26日催芽、8月8日発芽したものから播種(1区10株2反復)。サンプリングは最大葉と次の葉から各6デイスク(12デイスク/株)
 71~92: 2003年7月13日催芽、7月16日播種(1区10株2反復)。8月19~20日収穫。サンプリングは最大葉・次の葉から各6デイスク(12デイスク/株)

する情報もないため、抽だいの危険性が高い 5 月播種は行わなかった。全品種・系統について、催芽した種子を、雨よけハウスに条間 15 cm，株間 7 cm の千鳥りで播種を行った。なお，Ch 番号のついた系統については，60 °C 乾熱で 3～5 日間の休眠打破処理を行った。施肥は $N:P_2O_5:K_2O=1.0:1.2:1.0 \text{ kg} \cdot a^{-1}$ ，苦土石灰 $5.0 \text{ kg} \cdot a^{-1}$ ，堆肥 $500 \text{ kg} \cdot a^{-1}$ とした。収穫は試験ごとに，供試した品種・系統の過半数が全長 20～25 cm 程度になった時に一斉に行った。

2. シュウ酸含量および硝酸含量の測定

株ごとに最大葉および次の葉の葉身から 4～8 枚のリーフディスクを採取し，測定まで -30°C で冷凍したものを測定用サンプルとした。シュウ酸含量および硝酸含量の測定は，試験 1 と同様に行った。

結果および考察

長日・高温・高湿度になる夏秋期に試験を行ったため，早期抽だいや生育初期の立ち枯れによって，含量の測定に供試できた株数が少ない品種・系統も見られた。Ch202015(No.46)，Ch02016(No.47)，Ch02024(No.55)，Ch02067(No.65) では測定に供試できる個体が得られなかった。2002 年に低シュウ酸用素材検索を行った 15 品種・系統（‘晩抽パルク’～Ch99272(No.1～15)，表 1-3)については，栽培時期を異にした 2 度の試験においていずれも 1% 水準で有意な品種間差が見られ，‘シャイアン’が両方の試験で低含量を示し

た。しかし、これまでの研究室内のデータから含量が低いことが期待された Ch99169～Ch99272 (No. 7～15) については、既存品種より含量が有意に低い品種・系統は見い出せなかった。

次に、2002年低硝酸用素材検索を行った18品種（‘イチバ’～‘晩抽サイクル’ (No. 15～31), 表 1-3) について硝酸含量を見ると、2回行った栽培ではいずれも1%水準で有意な品種間差が見られた。‘イチバ’、‘アイクル’、‘ホークス’は1回目と2回目の栽培でいずれも低かったが、他の品種と比較して、顕著に低い含量ではなかった。

シュウ酸含量および硝酸含量についてスクリーニングを行った59系統 (Ch02001～Ch02065 (No. 32～90), 表 1-3) についてみると、2002年に試験を行った Ch02001～Ch02072 (No. 32～69) では、シュウ酸含量および硝酸含量についていずれも1%水準で有意な品種間差が見られた。しかし、同時期に収穫を行った‘晩抽パルク’および‘マジック’と比較すると、シュウ酸含量は高かった。硝酸含量では、Ch02009 (No. 40), Ch02023 (No. 54), Ch02029 (No. 60)などの系統で低く、低硝酸含量の候補遺伝資源の可能性を持つが、これらのシュウ酸含量は‘晩抽パルク’および‘マジック’より高く、両含量低下のための有望な育種素材とは考えられなかった。2003年に試験を行った Ch02037～Ch02065 (No. 70～90), 表 1-3) については、シュウ酸含量および硝酸含量について品種間差は見られず、

‘晩抽パルク’に対して有意に含量が低い系統は見られなかった。Ch02056(No.82)は、硝酸含量が低かったが、1株のみであり、やや抽だいがあったため、さらなる調査が必要である。

素材検索を行った中では、シュウ酸含量および硝酸含量について、ある程度の品種間差は見られ、含量の低い品種・系統は硝酸含量について一部みられたが、直接、育種素材として利用可能な系統とはいえなかった。研究室内での数百点の過去の素材検索の結果（川頭ら，2002）やこれまでの報告（Beiquan, 2008; Solbergら，2015）から、現在まで調査した中からは有望な素材が得られる可能性は低いと考えられた。そのため、本研究では既存品種を対象として、個体選抜を行うことによりシュウ酸含量および硝酸含量に低減が可能であるかについて、検討を行うことにした。

試験 4 シュウ酸含量および硝酸含量に関する選抜

研究室のこれまでの研究から、比較的低い傾向を示す品種として‘マジック’，‘晩抽パルク’，‘シャイアン’などが認められた（川頭ら，2000，2001，2002；沖村ら，1999）。これらの品種では、高温時期の複数回の栽培において、供試品種の中で含量が低い場合があったが、他品種と同程度の含量となる場合もあり、低含量と確定するには至らなかった。しかし、栽培条件によっては、他の品種よりも低含量を示すことから、遺伝的に低含量となる能力があると

考えられる。そこで、これらの品種を用いてシュウ酸含量および硝酸含量について育種的な低減の可能性について検討した。また逆に、含量が高い方向へ選抜可能かを検証した。

材料および方法

1. 材料および選抜

選抜親となる品種として、 F_1 品種の‘マジック’、‘晩抽パルク’、‘シャイアン’、固定品種の‘禹城’の4品種を用いた。 F_1 品種については、研究室内で保有する F_2 世代(F_1 品種の集団受粉により作成)より選抜を進めた。固定品種の‘禹城’については、個体ごとに性質が異なると推定されるため、市販種子から直接個体選抜を進めた。ハウレンソウは、風媒花で雌雄異株(間性株を含む)の他殖性のため、固定品種における形質の固定が不十分で、品種集団内に草姿や葉形の異なる個体を有している。‘禹城’も戦前に中国から導入された古い品種であり、 F_1 品種と比較すると葉形や生育などに不揃いが見られ、遺伝的変異を含んでいると推察された。

選抜形質は、‘マジック’、‘晩抽パルク’の2品種は、低シュウ酸について、‘禹城’は高シュウ酸および低シュウ酸について行った。‘シャイアン’は低硝酸について行った。催芽した種子を雨よけハウスに播種し、8月を中心とした高温期に栽培を行った。選抜の元となった親が同じ系統については、過半数の個体の全長が20～

25 cm になった時に一斉にシュウ酸含量および硝酸含量測定用のサンプルをリーフディスク法で採取した。元品種ごとの播種日，供試材料について，表 1-4～表 1-7 に示した。

2. 選抜系統の現地試験

‘シャイアン’から選抜した低硝酸系統について，環境の影響をみるため，東北農研センター，青森県産業技術センター（青森県上北郡），神奈川農業技術センター（神奈川県平塚市）において現地試験を実施した。栽培は夏秋期に現地の慣行で行った。青森県では，株間 15 cm，条間 15 cm で播種し，1 区 24 株 2 反復とした。神奈川県では，株間 15 cm 条間 6 cm で播種し，1 区 10 株 2 反復とした。東北農研では，株間 15 cm，条間 15 cm で播種し，1 区 25 株 2 反復とした。栽培試験は 3 か年行った。供試品種系統は，‘シャイアン’を元親とする F₆ 世代である盛岡 1 号，‘シャイアン’，標準品種として‘アクティブ’の 3 品種・系統を用いた。収穫は試験地ごとに，いずれかの品種・系統の全長が 25 cm になった時に，全品種・系統の地上部全体を一斉に収穫した。本試験は系統適応性および特性検定試験の一環で行った。

3. シュウ酸含量及び硝酸含量の測定

1) 選抜時

株ごとに第 4 葉および第 5 葉のみを切除し，各 4～8 枚のリーフディスクを採取し，-30 °C で凍結したものをサンプルとした。リーフ

表1-4 F₁品種‘マジック’を元親とした低シユウ酸含量についての選抜

年度	2002年			2003年			2004年				
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F4	
世代 および シユウ酸含量	21株 400(278~585) ^z 125株 377(211~573)	40株 1398(1091~1716) ^b 89株 1281(885-1734) a	21株 271(211~312)	7株選抜 976(891~1024)	33株 1259(1024~1593) n. s.	12株 1275(1042~1600)	21株 1258(877~1509)	1株 1281(-)	22株 1259(1010~1544)	81株 1521(1102~1368)	7株 1321(1187~1468)
選抜株数	21株選抜 集団交配	21株選抜 集団交配	7株選抜 集団交配	7株選抜 集団交配	33株 1259(1024~1593)	12株 1275(1042~1600)	1株 1281(-)	4株選抜 集団交配	22株 1259(1010~1544)	7株 1321(1187~1468)	
播種日 ^y	8月23日	8月26日	8月26日	8月26日	8月31日	8月31日	8月31日	8月31日	8月31日	8月31日	
収穫日	10月11日	10月6日	10月6日	10月6日	10月13日	10月13日	10月13日	10月13日	12月15日	12月15日	

^z シユウ酸含量の葉身の測定値を平均(最低値~最高値)mg/100gFWとして示す

^y 催芽した種子を記載した播種日から、発芽した個体ごとに数日にわたって本圃に播種した

^x Tukey-kramer分析の結果、同じ播種期ごとに異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり。n. s.は有意差なし。

^w 猛暑による生育不良が懸念されたため、セルトレイに播種をした後、本圃に移植した

表1-5 F₁品種‘晩抽パルク’を元親とした低シュウ酸含量についての選抜

年度	2002年			2003年				
世代	F1	36株	373(185~653) ^z	n. s. ^x	F1	45株	943(744-1749)	a
および	F2	122株	394(236~697)		F2	87株	945(621-1209)	a
シュウ酸含量	F3				F3	250株	1059(770-1529)	b
	20株選抜 293(236~328)			7株選抜 807(770~846)				
	集団交配			すべて雄株				
播種日 ^y		8月23日				8月26日		
収穫日		10月11日				10月3日		

^z シュウ酸含量の葉身の測定値を平均(最低値~最高値)mg/100gFWとして示す

^y 播種した種子を記載した播種日から、発芽した種子ごとに数日にわたって本圃に播種した

^x Tukey-kramer分析の結果、同じ播種期ごとに異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり。n. s.は有意差なし

表1-6 固定品種‘馬城’を元親(F0)とした低シユウ酸含量および高シユウ酸含量についての選抜

年度	2002年		2003年		2004年		2005年		2006年	
	F0	F1	F0	F1	F0	F1	F0	F1	F0	F1
世代	F0	F1-L	F0	F1-L	F0	F1-L	F0	F1-L	F0	F1-L
および	525(271~1347) ^z	1088(599~1641) ^b	1027(339~1434) ^a	1088(599~1641) ^b	1575(1108~2105) ^a	1715(1223~2657) ^{ab}	1543(1160~2050) ^{n. s.}	1910(1271~2367)	1770(899~2738) ^{n. s.}	19211(10395~24848) ^{n. s.}
シユウ酸	79株	254株	24株	20株	36株	20株	36株	22株	30株	6株
含量	1027(339~1434) ^a	1088(599~1641) ^b	1027(339~1434) ^a	1088(599~1641) ^b	1575(1108~2105) ^a	1715(1223~2657) ^{ab}	1543(1160~2050) ^{n. s.}	1910(1271~2367)	1770(899~2738) ^{n. s.}	19211(10395~24848) ^{n. s.}
選抜株数	23株	254株	24株	20株	36株	20株	36株	22株	30株	6株
低含量(L)	347(271~441)	1088(599~1641) ^b	1027(339~1434) ^a	1088(599~1641) ^b	1575(1108~2105) ^a	1715(1223~2657) ^{ab}	1543(1160~2050) ^{n. s.}	1910(1271~2367)	1770(899~2738) ^{n. s.}	19211(10395~24848) ^{n. s.}
23株	347(271~441)	1088(599~1641) ^b	1027(339~1434) ^a	1088(599~1641) ^b	1575(1108~2105) ^a	1715(1223~2657) ^{ab}	1543(1160~2050) ^{n. s.}	1910(1271~2367)	1770(899~2738) ^{n. s.}	19211(10395~24848) ^{n. s.}
集団交配	652(599~704)	1088(599~1641) ^b	1027(339~1434) ^a	1088(599~1641) ^b	1575(1108~2105) ^a	1715(1223~2657) ^{ab}	1543(1160~2050) ^{n. s.}	1910(1271~2367)	1770(899~2738) ^{n. s.}	19211(10395~24848) ^{n. s.}
高含量(H)	8株	235株	14株	14株	31株	14株	31株	24株	24株	29株
8株	859(723~1347)	235(1309~1459)	14株	14株	31株	14株	31株	24株	24株	29株
集団交配	859(723~1347)	235(1309~1459)	14株	14株	31株	14株	31株	24株	24株	29株
播種日 ^y	8月23日	8月27日	8月30日	8月30日	8月30日	8月30日	8月30日	8月25日	8月25日	8月25日
収穫日	10月4日	10月11日	10月13日	10月13日	12月15日	10月13日	10月13日	10月13日	10月13日	10月16日

^z シユウ酸含量の葉身の測定値を平均(最低値~最高値)として示す, 単位は2002年~2005年度はmg/100gFW, 2006年度はmg/100gDWとした

^y 播種した種子を記載した播種日から、発芽した個体ごとに数日にわたって本圃に播種した

^x Tukey-Kramer分析の結果、同じ播種期ごとに異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり, n. s. は有意差なし

* 猛暑による生育不良が懸念されたため、セルトレイに播種をした後、本圃に移植した

表1-7 F₁品種‘シャイアン’を元親とした低硝酸含量についての選抜

年度	2002年			2003年			2004年			2005年					
	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目 [*]	1回目	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目			
世代	F1	F1	F1	F1	F1	F1	F1	F1	F1	F1	F1	F1			
および	9株	53(21~94) ^z	47株	52(17-146) a	32株	719(543~914) b	7株	395(257~521) n. s.	13株	473(353~612) n. s.	23株	565(264~736) b	23株	481(212~754) b	
硝酸含量	21株	35(16~71) a	97株	78(23-216) b	29株	735(424~1030) b	50株	434(99~735)	8株	345(229~421)	11株	224(86~327) a	77株	325(74~696) a	
			44株	42(17-93) a	26株	460(226~780) a	23株	168(30~319)							
選抜株数	5株選抜	18(17~20)	10株選抜	23(17~28)	10株選抜	321(226~406)	11株選抜	106(30~168)						21株選抜	197(74~338)
	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種	複数組に分けて集団採種
播種日 ^y	8月23日	8月27日	8月27日	8月30日	8月30日	8月30日	8月30日	8月30日	8月4日	8月4日	8月16日	8月25日	8月25日	8月25日	8月25日
収穫日	10月4日	10月8日	10月8日	10月13日	10月13日	10月15日	12月15日	9月21日	9月21日	9月21日	9月28日	10月13日	10月13日	10月13日	10月13日

^z 硝酸含量の測定値を平均(最低値~最高値)として示す。2002年と2003年は葉身の含量、2004年と2005年は葉柄の含量を示す。単位は2002年~2005年は新鮮重あたり (mg/100gFW)、2006年は乾物重あたり (mg/100gDW) とした

^y 催芽した種子を記載した播種日から、発芽した個体ごとに数日にわたって本圃に播種した

^x Tukey-kramer分析の結果、同じ播種期ごとに異なるアルファベット間で5%水準で有意差あり、n. s. は有意差なし

^{*} 猛暑による生育不良が懸念されたため、セルトレイに播種をした後、本圃に移植した

ディスクは， 2002年および2003年は葉身から採取し， 2004年以降は葉身および葉柄から採取した．シュウ酸含量および硝酸含量の分析については， 試験1と同様に行った．

2) 選抜系統の現地試験

青森県および神奈川県において収穫した株はただちに冷蔵後，クール便で東北農研センターに送られ，硝酸含量およびシュウ酸含量の測定用サンプルを採取した．株ごとにすべての葉を葉身と葉柄に分割し，70℃で風乾後にステンレスビーズで粉碎した．乾燥粉末約10mgを測定用サンプルとして用いた．シュウ酸および硝酸の分析については， 試験1と同様に行った．

4. 選抜および後代採種

含量によって選抜した株は，圃場からポットに掘り上げ，24時間日長下で開花させた．開花後に株ごとの雌雄性を確認し，元親ごとに集団交配あるいは個別交配を行った．

結果および考察

元品種から，低シュウ酸含量について選抜を行った結果を表1-4～1-6および図1-13に示す．なお，2004年度以降は葉身および葉柄のサンプルから，シュウ酸含量および硝酸含量の両方を測定しているが，表および図では，シュウ酸については含量の多い葉身の含量についてのみを示し，硝酸については含量の多い葉柄についての

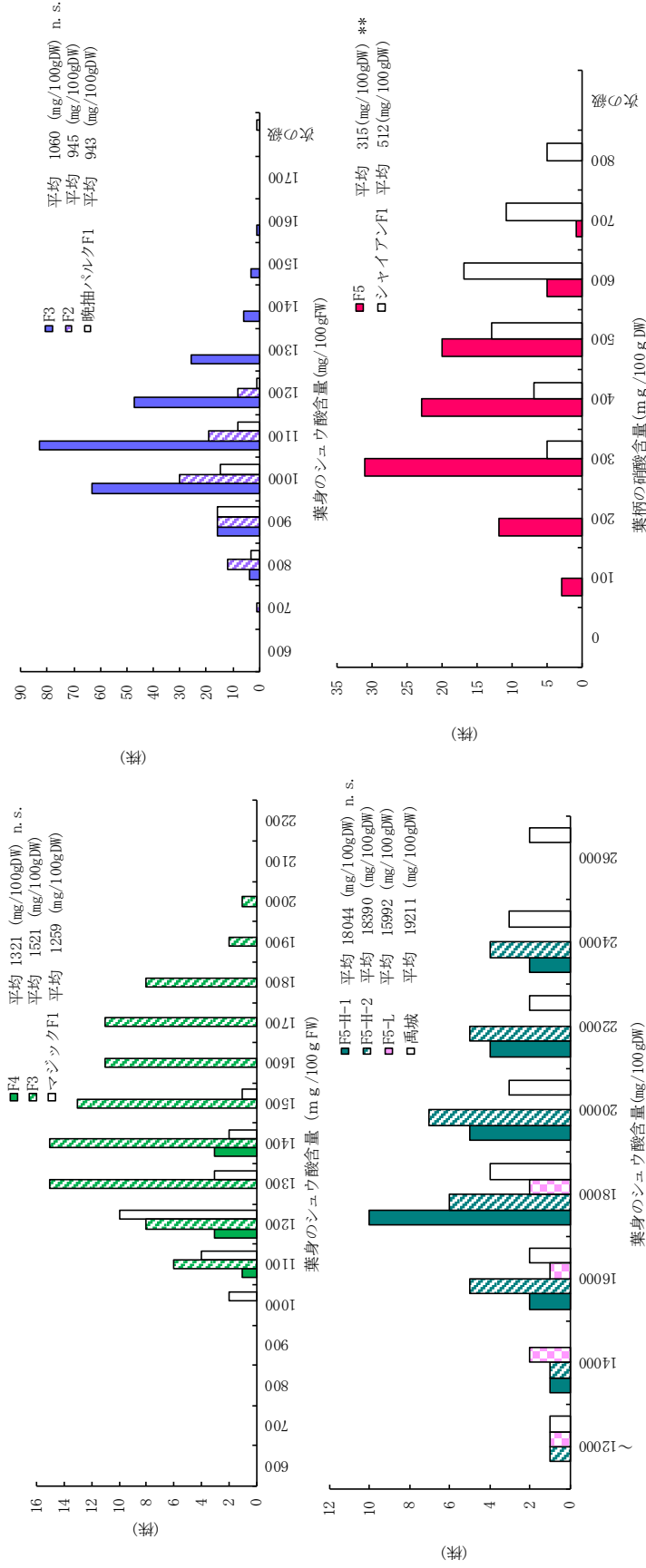


図1-13 元品種および選抜集団のシュウ酸含量または硝酸含量の分布

左上：‘マジック’ および ‘マジック’ を元品種とする選抜集団
 右上：‘晩抽ハルク’ および ‘晩抽ハルク’ を元品種とする選抜集団
 左下：‘禹城’ および ‘禹城’ を元品種とする選抜集団，F4-H_11およびF4-H_22は高シュウ酸の選抜、F4-Lは低シュウ酸の選抜を行った集団を示す。
 右下：‘シヤイアン’ および ‘シヤイアン’ を元品種とする選抜集団

み示した。選抜回数は，‘マジック’では F₂ から F₄ までの 2 回，‘晩抽パルク’では F₂ から F₃ までの 1 回，‘禹城’では，元品種を F₀ とすると F₄ までの 4 回行った。

‘マジック’の結果を表 1-4 および図 1-13 に示す。2002 年において，F₁ 品種と F₂ 世代のシュウ酸含量の分散はルビーン検定により 5% 水準で等分散を示し(データ略)，明確な遺伝分離は見られなかった。これは，F₁ 品種の両親にシュウ酸含量の遺伝変異がないか，あるいは遺伝変異より環境の影響が強いため，遺伝変異が隠されたことが考えられる。F₂ 世代 125 株からシュウ酸含量が低く，かつ生育が良好な個体を 21 株選抜し(平均含量 271 mg・100 gFW⁻¹)，集団交配により F₃ 世代を得た。F₁ 品種と F₂ および F₃ 世代を供試した 2003 年においては F₂，F₃ 世代は F₁ よりシュウ酸含量が減少した。F₃ 世代からさらに低シュウ酸個体の選抜を行った 2004 年の F₄ 世代においては，供試個体数が少なかったが，F₁ 品種と有意な差は見られなかった。F₄ 世代からも個体選抜を行い，F₅ 世代の種子を得たが，この集団内からシュウ酸含量の低減の可能性は低いと判断し，F₅ 世代についての栽培調査は行わなかった。

‘晩抽パルク’の結果を表 1-5 および図 1-13 に示す。2002 年の F₁ 品種と F₂ 世代のシュウ酸含量は‘マジック’と同様にルビーン検定により等分散を示した(5% 水準で有意)(データ略)。F₂ 世代 122 株からシュウ酸含量の低い個体を 20 株選抜し(平均含量 293 mg・

100 gFW⁻¹), 集団交配を行った F₃ 世代においては, F₁ 品種, F₂ 世代よりもシュウ酸含量は増加した. ‘晩抽パルク’を元品種とする F₃ 世代の選抜個体は, 全て雄株であったため集団内で後代は得られず, また低シュウ酸の傾向も見られなかったため, 選抜は中止した.

‘禹城’の結果を表 1-6 および図 1-13 に示す. 元品種 113 株からシュウ酸含量が低い個体 23 株を選抜・集団交配し作成した 2003 年の F₁ 世代 (F1-L) の含量は元品種より高くなった. 同じく含量が高い個体 8 株を選抜し作成した F₁ 世代 (F1-H) では, 元品種と同等の含量であった. F₁ 世代からさらに低含量個体と高含量個体の選抜を進めた F₄ 世代においても, 低含量への選抜系統 (F4-L) および高含量への選抜系統 (F4-H₁, F4-H₂) と元品種のシュウ酸含量には有意な差は見られなかった.

以上のように, シュウ酸含量について選抜を行った 3 品種では, いずれにおいても低シュウ酸の選抜効果は得られなかった. 本試験において, 選抜効果がみられなかった要因として, ①シュウ酸含量が多数の微動遺伝子に支配されているため, 選抜初期にはシュウ酸含量に関与する遺伝子が集積されずに表現型に反映されない可能性や, ②供試した 3 品種において, すでにシュウ酸含量がほぼ固定しており, 遺伝変異が小さかった可能性が考えられる. そのため, ①の対応としては, 集団選抜と個体選抜を組み合わせた循環選抜法などにより, 遺伝子の集積を図る必要がある. しかし, 循環選抜を

行うには、大規模な初期選抜集団が必要となり、ハウレンソウに適用するには、栽培面積、サンプリングなどに物理的に制約がある。また、 F_2 世代でのシュウ酸含量の分散が F_1 世代と有意な差がなかったことから、②の要因の可能性が高いと推察される。

Kaminisi・Kita (2006) は可食部全体で比較すると晩生品種はシュウ酸塩濃度が高く、硝酸塩濃度は低く、逆に、早生品種では、シュウ酸塩濃度が低く、硝酸塩濃度は高い傾向があると報告している。早生品種が多い東洋種系と晩生品種が多い西洋種系など、遺伝的に遠いと推定される品種間で交配を行うことで、シュウ酸含量に関与する遺伝子を集積できる可能性はあると考えられる。日本で市販されている F_1 品種は、すでに高温多湿で日長の長い夏秋期の栽培に適用でき、かつ草姿や風味が日本人に好まれるように、東洋種系と西洋種系の系統を用いた交配が行われている。これらの市販品種の中から、安定してシュウ酸含量の異なる品種は見出されておらず、またこれまでの近縁野生種を含めた遺伝資源の調査(川頭ら, 2002; Mou, 2008) からも安定した低含量の系統は得られていないが、遺伝的変異が小さく、環境の影響を受けやすいため、遺伝的変異が的確に抽出されていない可能性がある。従来 of 交配育種以外の育種方法を用い、Murakami ら(2009) が化学変異原処理により低シュウ酸含量のハウレンソウ系統を育成した。また、太田(2016)も組織培養により低シュウ酸ハウレンソウ系統を作出した。安定性や品質面

で課題があり，品種化はされていないが，今後，さらなる遺伝資源のスクリーニングの他，突然変異育種やゲノム編集等の新育種技術により低シュウ酸含量の優良品種の育成の可能性があると考えられた．シュウ酸含量に関するアソシエーション解析（Ainongら，2016）では，葉身の含量に関与すると推定されるマイナーな数個の因子が見つかっている．これまでハウレンソウで利用可能なゲノム情報は限られていたが，近年，急速に解析が進み（Chenxiら，2015；2017），効率的な育種に寄与するものと期待される．

低硝酸について選抜を行った‘シャイアン’の結果を表 1-7 および図 1-13 に示す．2002 年の F_1 品種と F_2 世代では硝酸含量に関して，ルビーン検定により F_2 世代での分散が有意に大きく，分離が見られた（データ略）． F_2 世代の硝酸含量は F_1 品種と比較して有意に低かった． F_2 世代 21 株から硝酸含量が低い個体を 5 株選抜し（平均値 $18 \text{ mg} \cdot 100 \text{ gFW}^{-1}$ ），2 グループに分けて集団交配を行い，種子親別に採種し， F_3 世代を得た．なお， F_3 世代以降については，選抜個体をいくつかのグループに分け，集団交配を行い種子親別に採種した．試験には採種量の多い種子親の種子を供試し，種子親ごとに別系統として扱った．系統当たりの個体数が少ないこと，系統間に硝酸含量に顕著な差異がなかったことから，表 1-7 で全系統の平均値とり，世代ごとの含量として記載した．選抜と交配は同系統内で行い，世代を進めた． F_3 世代では， F_1 世代より硝酸含量は減少し

たが、有意な差は認められなかった。F₄世代では、2004年に2回調査したが、いずれもF₁世代およびF₂世代より含量は低く、特に1回目の調査では有意に低下した。2005年のF₅世代では、約10日間隔で3回の栽培を行ったが、平均値はいずれも元品種であるF₁よりも低く、2回目および3回目の栽培では有意に減少した。2002～2005年までの計7回の栽培において、選抜系統はいずれも元品種の硝酸含量より低い含量を示した。以上のことから、‘シャイアン’を元親とする選抜系統では低硝酸性が安定していると考えられた。一方、この選抜系統のシュウ酸含量(葉身)を見たところ、F₃世代以降において、F₁品種より有意に高かった(データ略)。F₅世代で個体ごとに硝酸含量とシュウ酸含量の関係をみると、葉身の硝酸含量とシュウ酸含量では $r = -0.26$ の弱い負の相関があり(5%水準で有意)、葉柄の硝酸含量と葉身のシュウ酸含量では $r = 0.5$ の正の相関があった(1%水準で有意)(図1-14)。世代間で平均値を比較すると、硝酸含量がF₁品種より低いF₅世代では、シュウ酸含量が高くなったが、F₅世代の個体ごとに見た場合は、硝酸含量が低い個体のシュウ酸含量が必ずしも高くはなかった。また、図1-14の回帰直線の傾きはいずれも小さい値であった。

F₅世代から、硝酸含量が低く、生育が良好な個体を選抜し、全系統を混合した集団採種を行いF₆世代を作成した。このF₆世代を低硝酸系統‘盛岡1号’として、環境の影響を確認するため、異なる

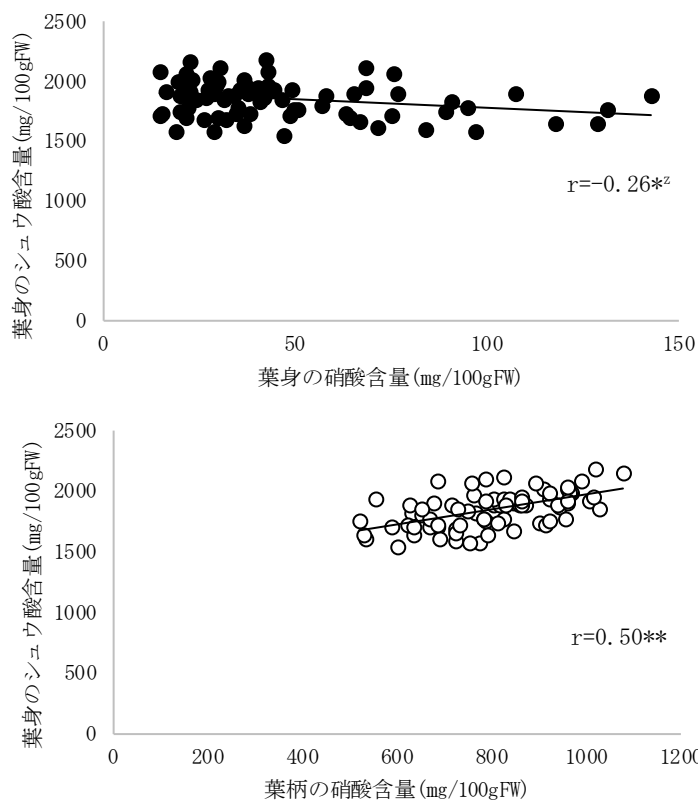


図1-14 F₅世代の個体ごとの硝酸含量およびシュウ酸含量の関係

(上：葉身の硝酸含量とシュウ酸含量、下：葉柄の硝酸含量と葉身のシュウ酸含量)

^z *は5%水準で有意, **は1%水準で有意

表1-8 ‘シャイアン’ を元親とする低硝酸系統盛岡1号の硝酸およびシユウ酸含量 (乾物100g当たりの含量)

実施場所	収穫日	葉柄				葉身																				
		盛岡1号	シャイアン	アқтаイブ	シユウ酸 (mg/100gDW)	盛岡1号	シャイアン	アқтаイブ	シユウ酸 (mg/100gDW)																	
2009年	青森県	5888	a (95)	6209	ab	7222	b	5949	b (113)	5245	a	5316	a	1794	(93)	1925	1883	n.s.	13046	b (114)	11403	a	11492	a		
		7914	a (103)	7658	ab	9165	b	4503	(111)	4063	4103	n.s.	1756	a ^z (93)	1893	a	2416	b	10011	a	(95)	10576	b	10721	b	
	神奈川県	8199	a (113)	7273	a	10814	b	3259	b (142)	2292	a	2423	a	2152	a (90)	2378	a	2931	b	8894	(100)	8890	9050	n.s.		
		2181	a (52)	4184	b	4658	b	8091	b (110)	7324	a	7477	a	518	a (56)	920	b	1132	b	9958	(97)	10270	12756	n.s.		
東北農研	2538	a (84)	3017	a	4900	b	3393	b (126)	2684	a	2607	a	1106	(76)	1455	n.s.	1386	n.s.	9732	(98)	9891	9857	n.s.			
	品種平均	5344	(94)	5668	7352	5039	(117)	4321	4385				1465	(85)	1714	1949	10328	(101)	10206	10775						
2010年	青森県	1688	a (56)	2995	b	4682	c	7041	b (111)	6357	a	6083	a	389	a (59)	659	a	1110	b	11054	a	(96)	11527	ab	11941	b
		5157	a (67)	7693	b	8565	c	6421	b (117)	5506	a	5957	b	1070	a (52)	2046	b	2139	b	10982	(96)	11443	11435	n.s.		
	神奈川県	9302	(109)	8564	8952	n.s.	3101	b (128)	2423	a	2547	a	2182	a (81)	2694	b	2638	b	9609	a	(101)	9557	a	10232	b	
		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2153	a (82)	2627	b	1980	a	10552	(100)	10592	10461	n.s.			
東北農研	3279	a (82)	3992	b	7883	c	3578	b (115)	3100	a	3672	a	1693	a (116)	1455	a	2057	b	8939	a	(79)	11369	c	10123	b	
	品種平均	4856	(84)	5811	7521	5035	(116)	4347	4565			1497	(79)	1896	1985	10227	(94)	10898								
2011年	青森県	9591	a (86)	11125	a	12516	b	9348	c (117)	8008	b	6597	a	4157	a (86)	4849	b	5814	c	14365	b	(107)	13486	ab	13061	a
		7033	a (71)	9934	b	8191	a	3361	b (113)	2971	a	2597	a	1518	a (57)	2643	c	2066	b	10487	(100)	10443	10159	n.s.		
	東北農研	9086	a (89)	10163	b	10792	b	7311	b (120)	6069	a	6250	a	3270	ab (90)	3636	b	3103	a	12163	b	(109)	11198	a	10938	a
		品種平均	8542	(84)	10196	10201	6327	(124)	5111	4950			2832	(83)	3403	3336	11824	(106)	11193	11132						
2009年	場所	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
	品種	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
二元配置分散分析 ^x	2010年	場所	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**	
	2011年	場所	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**	
2010年	場所	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
	品種	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
2011年	場所	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
	品種	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
2009年	場所	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
	品種	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
2010年	場所	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
	品種	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
2011年	場所	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		
	品種	**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		**		

^z 収穫日ごと、含量ごとにTukey-kramer分析により、異なるアルファベット間に5%水準で有意差あり。n. s.は有意差なし

^y **は1%水準で有意差あり、*は5%水準で有意差あり

^x 2009年は、各試験から品種ごとに任意の19個体ずつについて行った

2010年は、青森県の11月4日収穫と東北農研、神奈川県の各品種から任意の27個体ずつについて行った

2011年は、各試験の品種ごとに全個体について行った

った3か所で現地試験を実施した。その結果を表1-8に示す。硝酸含量が高い葉柄の含量で見ると、3か年13回の栽培において、‘盛岡1号’は元品種‘シャイアン’より6回の栽培で有意に含量が低かった。標準品種‘アクティブ’と比較すると、13回中11回の栽培で有意に含量が低かった。葉身の硝酸含量では、13回の栽培において、7回の栽培で‘シャイアン’より有意に含量が低かった。標準品種‘アクティブ’と比較すると、13回のうち9回で有意に含量が低かった。葉身・葉柄のどちらにおいても、‘シャイアン’および‘アクティブ’より有意に含量が高くなることはなかった。栽培年ごとの二元配置分散分析では、硝酸含量には、葉身および葉柄において、試験場所、品種および交互作用のいずれにおいても有意差が認められた。選抜はリーフディスクの含量の比較によって行ってきたが、‘盛岡1号’では葉身および葉柄の全体の含量が元品種より低下しており、リーフディスクによる選抜は有効であると考えられた。

一方、シュウ酸含量については、含量の低い葉柄では、13回の栽培において11回で‘シャイアン’および‘アクティブ’より有意に含量が高かった。含量の高い葉身では、13回のうち2回で‘シャイアン’および‘アクティブ’より有意に含量が高く、1回は有意に低かった。栽培年ごとの二元配置分散分析では、2010年、2011年の試験において葉柄および葉身について、試験場所、品種および

交互作用のいずれにおいても有意差が認められた。2009年の試験では、葉柄において、試験場所と品種には有意差が認められたが、交互作用は認められず、葉身においても、試験場所では有意差が認められたが、品種間差、交互作用は認められなかった。

‘盛岡1号’の現地試験の結果をまとめると、硝酸含量については、試験場所や年次変動はあるが、元品種の‘シャイアン’に比べ葉柄で6~16%、葉身で15~21%程度低くなり、低含量の選抜効果が認められた。また、シュウ酸含量は含量の多い葉身では、ほぼ同等の値であったが、葉柄では16~24%程度増加する傾向があった。‘盛岡1号’は、安定して硝酸含量が元品種より低くなるが、シュウ酸含量はやや高い系統であることが明らかとなった。しかし、硝酸含量の低下は年次や場所によって環境変動が大きいこと、低下の割合がそれほど大きくないことから、‘盛岡1号’を実用的に低含量品種として用いることは難しいと考えられる。今後は、‘盛岡1号’との交配後代における硝酸含量の分離などを検討し、育種素材として有用であるかを判断する必要がある。また、シュウ酸含量が増加する要因の検討も必要であると考えられた。これらの要因の解析にも、解析がすすむゲノム情報を活用することで、新たな知見が得られると期待される。

第 2 章 ホウレンソウの品種および栽培の違いが加熱後の葉色の 保持に与える影響

序論

業務加工用の野菜は価格面から輸入が増加した時期もあったが、その後国産の需要が高まり、生産は増加傾向にある（農林水産省，2013）。ホウレンソウは一般家庭で利用するための生鮮食品としての生産だけではなく、業務加工用の生産も行われており、品種の選択と生産地の移動による周年供給が確立されている。年間の国内総生産量は 25 万トン以上になり、ビタミン・ミネラルなどの栄養が豊富で、ルテインなどの機能性成分を多く含む重要な野菜である。生育適温は 15～20℃ 程度であるが、耐寒性が高く氷点下 10℃ 以下の気温にも耐えられる（香川，2004）。ホウレンソウの業務加工用途には冷凍品，給食，小売り向けの惣菜（中食）などがある。このうち特に惣菜用途においては、加熱調理後に照明付き商品棚に長時間陳列されるため、時間の経過とともに葉色の劣化・退色が生じ、「色がくすみ，暗くやや濁る」と認識されることが問題となっている。各種植物の緑色の変化にはクロロフィルの分解が関わっており、分解の条件や酸化防止剤による分解の抑制方法について研究が行われているが（藤田，2000；原，2014；石谷・木村，1977；木幡ら，2004；大久保，1988；尾崎ら，2004，2006；山内・執行，

2008), 酸化防止剤の添加による退色抑制法は, 食味の変化やコスト面などから利用できる場面は限定的である.

そこで, これに代わる対策として, 葉色の濃い品種の利用が考えられる. ホウレンソウの葉色には品種間変異があることが知られており, 生鮮状態において葉色の濃い品種を使用することで, 加熱調理後の退色をある程度緩和できる可能性がある. また, 葉色が濃くなるホウレンソウの栽培方法として「寒締め栽培」が知られている(平田ら, 2008). 寒締め栽培は, 東北地域などの寒・高冷地において行われている高品質化を目的にした栽培方法で, ホウレンソウでは冬季に収穫サイズにまで生育させた後にハウスの扉を開放するなどし, 地温が約 5 °C 以下となる条件下で 2 週間以上の栽培を行う. このように, 生鮮時の葉色の濃い品種や, 寒締め栽培などを利用することで, 加熱調理後の時間経過に伴う退色を軽減できることが期待されるが, これらの方策の有効性については, これまでに十分な知見がない. また, 一般的に寒締め栽培をすると Brix 糖度やビタミン C が上昇することが報告されている(藤原ら, 2005; 加藤ら, 1995) が, これまでの報告では同時期に多数の品種を比較した例はなく, 品種選択の観点からは, より多数の品種を同時に比較することが重要である.

そこで本研究では, 加熱調理後の退色防止に役立つ知見を得ることを目的として, 多数の品種を供試し, 葉色の品種間差異および播

種期を変えた栽培を行い，葉色評価の安定性を調査した．また，クロロフィル含量，Brix 糖度などと葉色との関係および目視による葉色の官能評価と色彩との関係を明らかにすることを試みた．加えて，葉色を濃くするうえで効果的と思われる寒締め栽培について，葉色に及ぼす影響を調査した．現段階で加工用に育成されたハウレンソウの品種は少ないため，生鮮用に品種改良された中から，収量性，伸長性，病害抵抗性，作業性などの優れる品種が業務加工用に用いられている（西田ら，2008；田代，2010）．そこで，本研究においては，まず葉色の濃い品種を選定して試験を行った．

材料および方法

1. 材料および栽培方法

市販のハウレンソウ品種の中から，種苗会社のカタログおよび直接聞き取りを行った情報に基づき，葉色が濃緑色と想定される 46 品種を選定した．これに加工用途にも使用されている品種 ‘スーパーアリーナ’，および ‘寒味’ を標準品種として加えた，計 48 品種を用いた（表 2-1）

栽培方法は以下の 4 とおりを行ない，葉長，葉色，クロロフィル含量，Brix 糖度，ビタミン C 含量を調査した．なお，必ずしも各品種で推奨されている作型の播種時期とはなっていないが，これは本研究が葉色に焦点をおいて比較を行ったためである．

表2-1 供試品種

品種 ²	種苗会社名
アクティオン	サカタのタネ
朝霧	渡辺採種場
アスパイアー	サカタのタネ
ヴィジョン	トキタ種苗
エスパー	タキイ種苗
SC7-405	サカタのタネ
オーライ	タキイ種苗
おかめ	タキイ種苗
おてもやん	タキイ種苗
オハイオ	武蔵野種苗
寒味	トキタ種苗
強力オーライ	タキイ種苗
クロノス	サカタのタネ
ご立葉	雪印種苗
サイクロン	トーホク
サブライズ	トーホク
サマーキープ	タキイ種苗
サマービクトリー	渡辺採種場
サラダあかり	タキイ種苗
サロニカ	協和種苗
シーバス	トキタ種苗
シーマ	協和種苗
シナージー7	渡辺農事
ジョーカー	トキタ種苗
スーパーアリーナ	トーホク
スペードワン	雪印種苗
鮮太郎	日本アグリ (J T)
ドーバー	渡辺採種場
トリトン	サカタのタネ
ニューアンナR4	タキイ種苗
ニューブリッジ	渡辺農事
ハンター	カネコ種苗
晩抽サンホープ	カネコ種苗
晩抽トルタス	カネコ種苗
冬霧7	渡辺採種場
冬恵7	渡辺採種場
ブライド	渡辺農事
ブライトン	サカタのタネ
プリウス	トキタ種苗
ベンチャーR5	タキイ種苗
マジェスタ	トキタ種苗
マゼラン	タキイ種苗
ミッドサマー	渡辺採種場
ミラージュ	サカタのタネ
雪美菜	雪印種苗
力士	渡辺農事
リビエラ	サカタのタネ
レオナ	タキイ種苗

² 品種名は50音順

1) 0709 秋播き

48 品種を 2007 年 9 月 20 日に岩手県盛岡市にある東北農業研究センター内のビニールハウス内に 15 cm×15 cm の千鳥に播種した。各品種 1 区 25 株の 2 反復とした。施肥は $N : P_2O_5 : K_2O = 1.5 \text{ kg} : 1.2 \text{ kg} : 1.5 \text{ kg} \cdot a^{-1}$ として全量を元肥で与え、追肥は行わなかった。収穫は各品種の生育中庸な 10 株について行い、伸長の早かった早生の 19 品種は 10 月 29, 30 日（収穫 1）、中生の 7 品種は 11 月 12 日（収穫 2）、晩生の 19 品種は 11 月 26, 27 日（収穫 3）に行った。なお、‘エスパー’は生育が不揃いであったためこの試験では調査を行わなかった。3 回の収穫時には後述する標準品種および‘寒味’も収穫し、官能評価の対照とした。以下のすべての栽培においても、収穫日ごとに調査品種に加えて標準品種の収穫を毎回行っている。

2) 0709 寒締め

0709 秋播きの収穫後に在圃の植物体について、寒締め栽培の条件（岡田ら，2005，2006）を満たす 11 月 27 日より、ハウスの側窓および扉を開放した。すなわち、収穫前 2 週間以上の期間を地温 5℃以下で推移する条件下で栽培を行い、2008 年 1 月 21, 22 日（収穫 4）および 28, 29 日（収穫 5）に各品種について生育の中庸な 10 株を収穫した。また、葉色の淡い品種として同圃場内に 2007 年 9 月 25 日に播種した‘禹城’も対照として供試した。なお、‘サラダ

あかり’は品種の特徴である葉柄と葉脈の鮮紅色が強調され、葉色の濃さ（緑色）を評価する目的にそぐわなかったため、この試験では除外した。

3) 0804 春播き

1) および 2) で用いた中から、調理後の葉色と草姿などで加工用の適性が高いと見られる 14 品種を選び、標準品種の‘スーパーアーナ’、‘寒味’を加えた計 16 品種について、2008 年 4 月 16 日にビニールハウス内に 1 区 25 株 2 反復で播種した。施肥は 1) と同様に行った。収穫は、早生の 6 品種については 5 月 26, 27 日、晩生の 5 品種は 6 月 2 日に行った。‘プライド’、‘オハイオ’、‘シナジー7’の 3 品種については収穫適期に至る前に抽だいしていたため、調査から除外した。

4) 0810 秋播き

1) ~ 3) で用いた中から葉色および葉の伸長性、株の開帳性など加工用途に適した 4 品種を選定し、これらに葉色が淡い品種‘日本’および標準品種の‘スーパーアーナ’を加えた計 6 品種について、2008 年 10 月 23 日にビニールハウス内に 1 区 25 株 2 反復で播種し、ベタがけ下で保温しながら栽培した。施肥は 1) と同様に行い、収穫は翌 2009 年 1 月 7 日に行った。

2. 葉長の測定

葉の色と伸長性との間の関係を明らかにするために、葉長の調査

を行った。品種ごとに生育の中庸な 6～10 株について，0709 秋播きについて 2007 年 10 月 22 日に最大葉の地際部から葉身の先端までを測定した。

3. 葉の厚みの測定

収穫後に，品種ごとに平均的な大きさの 1 株について最大葉付近の 3 枚の中央部分を，葉脈を避けてノギスを用いて測定し，平均値を算出した。

4. 葉色の調査

葉色の評価は，生鮮葉と後述する加熱葉について，官能評価と分光測色計（CM2500-d，コニカミノルタ（株））を用いた測定によって行った。

1) 官能評価

生鮮葉については，各調査日ごとに，標準品種の葉色を 3（基準）として，1（ごく淡い）～5（ごく濃い）の 5 段階による相対評価を行った。品種ごとに平均的な 3 株をまとめて評価した。標準品種は，0709 秋播きおよび 0804 春播きでは‘スーパーアリーナ’，0709 寒締めでは‘寒味’とした。0810 秋播きでは供試した 6 品種の中での相対評価とした。加熱葉については，各調査日ごとに加熱後に中庸な品種を 3（基準）として 5 段階の相対評価を行った。なお、後述に記載する試験すべてに共通して，官能評価との統計処理の際にはノンパラメトリック形質を扱えるスピアマン順位相関を用いた。

2) 分光測色計による測定

直径 1 cm の円形の範囲を測定し，CIELab 表色系における明るさを示す明度 L^* ，赤みを示す a^* ，黄みを示す b^* の値を求めた．これらの測定値を用いて，鮮やかさを示す彩度 $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ，色相を示す色相角度 $h = \tan^{-1}(b^*/a^*)$ を算出した．生鮮葉については，各品種につき 5 株を供試し，各株の最大葉付近の 3 枚について，葉脈を避けた中央付近を測定した．1 枚につき 3 カ所を測定し，平均値を算出した．加熱葉については，品種ごとに生鮮重が合計 1 kg となるように複数の株を混和し，沸騰水中で 90 秒茹でた後に流水で 5 分冷やし，対生鮮重量 95% になるように水切りを行ったものを用いた．加熱後の葉を葉身と葉柄が均等に混合されるように混和し，ポリエチレンカップに充填しラップで被覆した．その後，店頭のパネルに置かれた状況を想定して，約 12°C，約 1500 lx の蛍光灯下に 8 h（光照射 8 h）および 16 h（光照射 16 h）静置した．1 品種につき 3～5 個の直径 4 cm のポリエチレンカップに 7 g ずつ充填し，葉色の測定は所定の光照射後に各カップ 4 回ずつ行い，平均値を算出した．

5. クロロフィル含量およびフェオフィチンへの変化率の測定

上述の葉色測定で用いた生鮮葉について，先端から 1 cm の部分を 0.02 g 採取し，3 mL の n, n -ジメチルホルムアミドに一晩浸漬させて試料液を抽出した．この試料液について，分光光度計にて 648

nm および 663 nm における吸光度を測定し，Porra ら（1989）の方法によって総クロロフィル含量を算出した．各株より 2 サンプルを採取し，5 株の平均値を算出した．クロロフィルからフェオフィチンへの変化については，0810 秋播きの材料を用いて行った．凍結乾燥した生鮮葉，加熱葉（光照射 0 h，16 h）を磨砕した各 0.3 g に 80% アセトン を 26.7 mL 添加し，暗所にて 2 時間静置して抽出後にろ過し，ろ液の 10 mL に 80% アセトン を 0.3 mL 添加し 534 nm と 556 nm の吸光度を測定しその比をとった．また，ろ液の 8 mL にはシュウ酸飽和 80% アセトン を 0.3 mL 添加し，2 時間暗所で処理した後，吸光度を同様に測定して比をとった．これらの値より，新・食品分析法（永田ら，1996）の方法によって生鮮葉を基準としてフェオフィチンへの変化率を算出した．

6. Brix 糖度の測定

各品種につき 5 株から最大葉付近の 2 枚の葉を採取し，葉身と葉柄に分けたのち，それぞれについて糖度計（Spittz IPR-101，アズワン（株））を用いて Brix 糖度を測定した．葉身については葉脈部分を除去後，細断して凍結したものをすりつぶして得た抽出液について，2 回測定した．葉柄については下部から 4 cm を切り取り凍結後，葉身と同様の方法で 2 回測定を行った．

7. ビタミン C 含量の測定

各品種について 1~2 株より，最大葉付近の 4~5 枚の葉身から各

3 g を切り取り凍結したものをサンプルとした。海砂とメタリン酸 30 mL を添加しサンプルを磨砕した後、クロマトディスク 25A (0.45 μ m) に通したものの 50 μ L を用い HPLC (Elite Lachrom, (株) 日立) によりアスコルビン酸およびデヒドロアスコルビン酸を測定した。

結果および考察

生鮮葉の葉色の官能評価の結果を表 2-2 に、0709 秋播きの各品種の葉長を図 2-1 に示した。0709 秋播き 46 品種の葉色の官能評価は、各品種の伸長性が異なるため収穫 1~3 の 3 回に分けて行ったが、47 品種中で基準より淡い官能評価 1 および 2 の品種数の割合はそれぞれ 8.5 % , 17.0 % , となり、葉色の濃い品種を選んだことを反映していた (表 2-2)。葉の伸長性に関しては、‘オーライ’ (収穫 1) の 25.7 cm から ‘晩抽トルタス’ (収穫 3) の 9.8 cm まで品種間差異が見られた。供試品種は葉色の濃さを優先的に選択したため、秋播きが推奨されていない品種も含まれており、このことが大きな生育差につながったと考えられる。すなわち、通常の秋播きの場合は、短日・低温下で伸長性が高い品種が栽培されるが、本試験で生育が遅かった収穫 3 (収穫日 11 月 25・26 日) の ‘晩抽トルタス’ , ‘ブライトン’ などは夏の作型向きの品種であり、‘冬恵 7’ , ‘雪美菜’ などは寒締め栽培用と称されている品種であった。

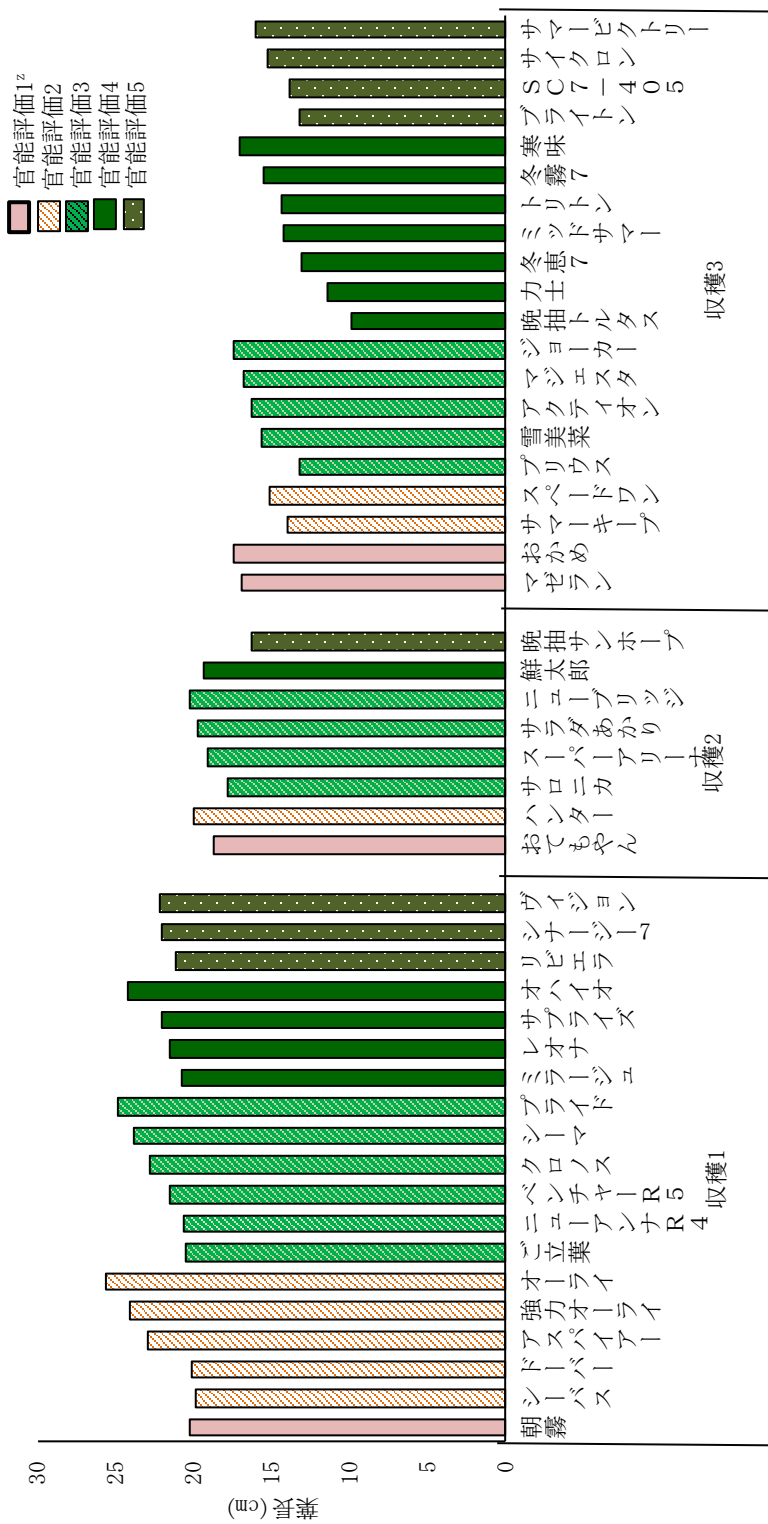


図2-1 0709秋播き（収穫1～3）の官能評価と葉長

葉長調査日：2017年10月22日

*収穫ごとに‘スーパーアーリーナ’を基準（3）として、5（ごく濃い）～1（ごく薄い）の5段階で表記した相対評価を行った（異なる収穫間の比較はできない）
 収穫日に関しては第2表を参照。

スパーマンの順位相関分析の結果、葉長と官能評価値の間に全収穫において5%水準で有意な相関はなかった

表2-2 試験区ごとの品種の官能評価（生鮮葉）

試験区 ²	官能評価 ³				
	1	2	3	4	5
0709秋播き 収穫1	朝霧	アスパイアー オーライ 強力オーライ シーバス ドーバー	クロノス ご立葉 シーマ ニューアンナR4 プライド ベンチャーR5	オハイオ サブライズ ミラージュ レオナ	ヴィジョン シナジー7 リビエラ
0709秋播き 収穫2	おてもやん	ハンター	サラダあかり サロニカ スーパーアリーナ ニューブリッジ	鮮太郎	晩抽サンホープ
0709秋播き 収穫3	おかめ マゼラン	スピードワン サマーキープ	アクティオン ジョーカー プリウス マジェスタ 雪美菜	寒味, トリトン 晩抽トルタス 冬霧7, 冬恵7 ミッドサマー カ士	SC7-405 サイクロン サマービクトリー ブライトン
0709寒締め 収穫4	アクティオン, 禹城 強力オーライ サマーキープ おかめ, マゼラン ニューアンナR4 おてもやん, オーライ	サロニカ シーマ	アスパイアー エスパー トリトン ハンター ベンチャーR5	クロノス, 鮮太郎 晩抽サンホープ 晩抽トルタス ブライトン ミラージュ リビエラ, レオナ	SC7-405
0709寒締め 収穫5	朝霧 冬恵7	ジョーカー スピードワン ドーバー ニューブリッジ 冬霧7, 雪美菜 マジェスタ	オハイオ 寒味 サマービクトリー シーバス プライド プリウス	ヴィジョン ご立葉 サブライズ シナジー7 スーパーアリーナ ミッドサマー	サイクロン カ士
0804春播き			ヴィジョン 寒味 スーパーアリーナ ベンチャーR5	サブライズ ハンター ブライトン	SC7-405 サイクロン ミッドサマー ミラージュ カ士 リビエラ
0810秋播き	日本		ヴィジョン	サブライズ スーパーアリーナ	ミラージュ

²収穫日は次のとおり

収穫1:2007年10月29・30日 収穫2:2007年11月12日 収穫3:2007年11月26・27日 収穫4:2008年1月21・22日 収穫5:2008年1月28・29日 0804春播き:2008年5月26・27日および6月2日 0810秋播き:2009年1月7日

³試験区ごとに以下の品種を基準(3)として, 5(ごく濃い)~1(ごく淡い)の5段階で表記した相対評価を行った(異なる試験区の比較はできない)

収穫1~3: 'スーパーアリーナ' 収穫4・5: '寒味' 0804春播き: 'スーパーアリーナ' 0810秋播き: 6品種間の相対評価

夏用の品種では低温・短日下では伸長が抑制され(片岡ら, 2012), 寒締め栽培用では外観で区別できるように葉面の縮みなどが重視されているため, 秋播きの作型では十分に伸長しなかったと推察された. 収穫ごとに葉長と葉色の官能評価との関係をみたところ, 有意な相関は見られず官能評価で濃い(4, 5)とされた品種の中には, 薄い(1, 2)とされた品種と比較し葉長が同等または長い品種が含まれており, 葉色が濃くかつ伸長性が高い品種があった.

伸長性および後述する調理後の葉色で選抜した品種を用いた 0804 春播き(16 品種), 0810 秋播き(6 品種)の官能評価の結果では, 0709 秋播きで葉色が濃いと評価した品種は, これら全 3 回の播種期において, 葉色が淡いと評価されることはなく, 年次, 栽培時期にかかわらず葉色の濃さは安定していた(表 2-2). なお, 0804 春播きのうち 3 品種で早期抽だいが見られた以外は順調な生育であり十分な伸長性を示した(データ略). 寒締め栽培では葉色が濃くなることが知られているが(青木, 2004), 0709 寒締めで官能評価では淡いとされた品種においても 0709 秋播きと比較すると達観では十分に濃い葉色であった. 0709 秋播きで濃いと評価された品種は, 寒締め処理後にも相対的に濃い評価となったが, 寒締め用品種である ‘冬霧 7’, ‘冬恵 7’ では, 色むらや黄化が見られたことから評価が下がった. 以上のことから, ホウレンソウの葉色の濃さは伸長性とは関係がなく, 伸長性が高くかつ安定して葉色が濃

い品種を選択することが可能であった。

葉色の官能評価とクロロフィル含量との関係を明らかにするため、0709 秋播きおよび 0709 寒締め の生鮮葉の総クロロフィル含量を調査した(図 2-2)。収穫ごとに両者の関係をみると、収穫 1, 3, 4 で総クロロフィル含量と葉色に有意な相関が見られた。しかし、官能評価で濃い(4, 5)と評価された品種の中にも、淡い(1, 2)と評価された品種と同程度かそれよりも低いクロロフィル含量の品種もいくつか見られた。クロロフィル含量における寒締めの影響を見たところ、0709 秋播き(収穫 1~3)と 0709 寒締め(収穫 4, 5)の総クロロフィル含量はそれぞれ平均 $1.80 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $1.67 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ で、t 検定により有意な差はなく、寒締め後に葉色が濃くなった要因は総クロロフィル含量の増加ではないと考えられた。品種ごとに総クロロフィル含量の変化をみると、極早生の‘オーライ’などでは寒締め栽培によって含量が増加したが、多くの品種では増加は見られなかった。一方、‘禹城’および‘エスパー’を除く 47 品種の葉の厚みは、0709 秋播きで平均 0.74 mm , 0709 寒締めで平均 0.79 mm となり、t 検定により 5 % で有意差が見られ、33 品種で厚みが増していた。このことから、寒締め栽培で葉色が濃く見えるのは、葉の厚みが増すことにより、単位面積当たりの総クロロフィル含量が増加したことが一因であると考えられた。一方、本研究では調査しなかったが、寒締め栽培ではカロテンやルテインが増加す

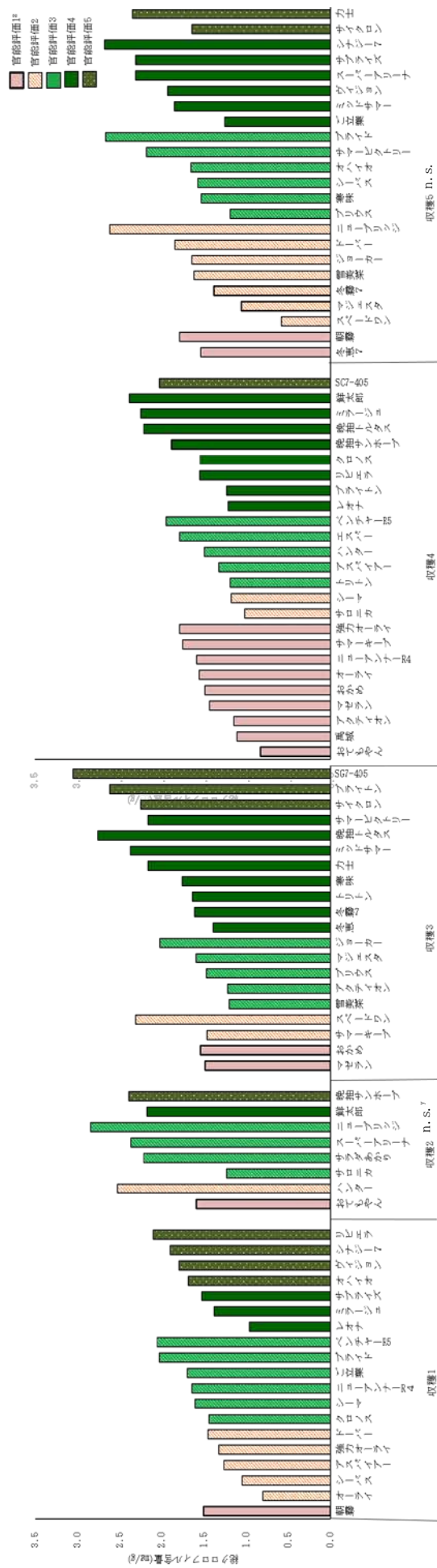


図2-2 0709秋播きおよび0709寒締めの官能評価と総クロロフィル含量

*取穫1~3では‘スーパリアリーナ’，取穫4・5では‘寒味’を基準(3)として，5(ごく濃い)~1(ごく淡い)の5段階で表記した相対評価を行った(異なる取穫間の比較はできない)
 †取穫日に関しては第2表を参照

‡スピアマンの順位相関分析の結果，含量と官能評価値との間には，n. s. で示した取穫を除いて，5%水準で有意に正の相関があった

ることも報告されており（加藤ら，1995；大鷲ら，2014），これらも葉色の濃さに関わることで推察される。

0709 秋播きおよび 0709 寒締めにおける生鮮および加熱後の光照射下での葉色の官能評価を表 2-3 に示した。0709 秋播き，0709 寒締めともに，生鮮葉と加熱・光照射後の官能評価には 1% 水準で有意な正の相関が見られ，生鮮葉で葉色が標準品種より濃い（官能評価 4，5）と評価された 37 品種（0709 秋播き 20 品種，0709 寒締め 17 品種）のうち，加熱後の光照射 0 h でも 26 品種が濃いと評価され，生鮮葉で標準より薄い（官能評価 1，2）とされた 31 品種（0709 秋播き 12 品種，0709 寒締め 19 品種）では，光照射 0 h でも 20 品種が薄いと評価された。光照射 16 h では，生鮮葉で濃いと評価された 37 品種中 22 品種が濃いと評価され，薄いと評価された 31 品種については 21 品種が薄いと評価された。以上のことから，生鮮葉で葉色が濃い品種を用いることによって，加熱・光照射後にも好ましい葉色の保持が可能となることが明らかとなった。

0709 秋播きと 0709 寒締めにおける，葉色の官能評価値と測色値（ L^* , C^* , h ）を図 2-3 に示す。同じ収穫において，生鮮葉で官能評価が濃いと評価された品種は，薄い品種よりも明度 L^* および彩度 C^* が低く，色相角度 h が大きかった。加熱葉について官能評価との関係をみると，光照射 0 h の収穫 1 および収穫 2 などでは官能評価 3 および 4 の測色値が他の収穫とは大きく異なっており相関はな

表2-3 生鮮葉と加熱葉・光照射における官能評価の比較

試験区 ²	品種名	官能評価				
		生鮮葉	加熱葉 光照射			
			0h	8h	16h	
0709秋播き 収穫1	朝霧	1	1	1	1	
	ドーバー	2	1	2	2	
	強力オーライ	2	3	3	2	
	オーライ	2	3	3	3	
	アスパイアー	2	3	3	3	
	シーバス	2	3	1	2	
	ニューアンナR4	3	1	1	1	
	シーマ	3	3	3	2	
	ベンチャーR5	3	3	3	4	
	ご立葉	3	3	3	2	
	ブライド	3	3	3	4	
	クロノス	3	4	3	4	
	レオナ	4	3	3	2	
	オハイオ	4	4	4	5	
	ミラージュ	4	5	4	4	
	サブライズ	4	3	3	4	
	ヴィジョン	5	4	4	4	
シナジー7	5	5	5	5		
リビエラ	5	5	4	4		
0709秋播き 収穫2	おてもやん	1	1	1	1	
	ハンター	2	5	-	3	
	サロニカ	3	2	2	2	
	サラダあかり	3	3	3	3	
	ニューブリッジ	3	4	4	5	
	スーパーアリーナ	3	4	5	5	
	鮮太郎	4	5	4	4	
	晩抽サンホープ	5	3	3	4	
	0709秋播き 収穫3	おかめ	1	1	1	1
		マゼラン	1	2	3	3
スベードウン		2	1	1	1	
サマーキープ		2	2	2	1	
マジェスタ		3	1	1	1	
アクティオン		3	1	1	1	
ブリウス		3	2	1	1	
ジョーカー		3	3	2	2	
雪美菜		3	3	3	3	
冬恵7		4	1	1	1	
冬霧7		4	3	2	2	
トリトン		4	3	3	3	
寒味		4	3	3	3	
晩抽トルタス		4	3	4	4	
力士		4	4	4	3	
ミッドサマー		4	4	5	5	
サマービクトリー		5	4	4	4	
サイクロン	5	5	5	5		
ブライトン	5	5	5	5		
SC7-405	5	5	5	5		
0709寒締め 収穫4	アクティオン	1	2	1	1	
	サマーキープ	1	1	1	1	
	強力オーライ	1	2	2	2	
	おかめ	1	2	2	3	
	マゼラン	1	3	2	3	
	おてもやん	1	3	2	3	
	ニューアンナR4	1	4	3	4	
	オーライ	1	4	4	4	
	サロニカ	2	1	1	1	
	シーマ	2	3	3	2	
	アスパイアー	3	3	4	3	
	トリトン	3	3	3	2	
	ハンター	3	5	5	4	
	ベンチャーR5	3	4	4	5	
	エスパー	3	5	3	4	
	晩抽トルタス	4	2	2	2	
	晩抽サンホープ	4	4	4	3	
クロノス	4	4	4	3		
ミラージュ	4	4	4	4		
ブライトン	4	5	5	5		
リビエラ	4	5	5	4		
レオナ	4	3	2	3		
鮮太郎	4	5	4	3		
SC7-405	5	5	5	4		
0709寒締め 収穫5	冬恵7	1	1	1	1	
	朝霧	1	1	1	1	
	冬霧7	2	2	1	1	
	ドーバー	2	2	1	1	
	雪美菜	2	2	2	2	
	ニューブリッジ	2	3	4	3	
	スベードウン	2	1	-	1	
	マジェスタ	2	1	-	1	
	ジョーカー	2	2	-	1	
	ブリウス	3	1	-	1	
	寒味	3	2	-	1	
	シーバス	3	3	-	1	
	オハイオ	3	5	-	5	
	ブライド	3	5	5	5	
	サマービクトリー	3	5	4	3	
	スーパーアリーナ	4	3	-	2	
	ご立葉	4	4	-	2	
サイクロン	5	4	-	5		
サブライズ	4	5	-	5		
ヴィジョン	4	5	-	5		
力士	5	4	5	4		
シナジー7	4	4	4	3		
ミッドサマー	4	4	4	3		

² 収穫日に関しては第2表を参照。

³ 生鮮葉では収穫1～3では‘スーパーアリーナ’、収穫4・5では‘寒味’を基準(3)として、5(ごく濃い)～1(ごく淡い)の5段階で表記した相対評価を行い、加熱葉では加熱後に光照射0, 8, 16hのそれぞれで中庸な品種を基準(3)として相対評価を行った(異なる収穫間、生鮮葉と加熱葉などの比較はできない)

‘-’は評価値がない場合を示す

⁴ 生鮮葉と加熱・光照射後の官能評価のスパイアマン順位相関分析の結果、1%水準で‘**’で有意に正の相関あり

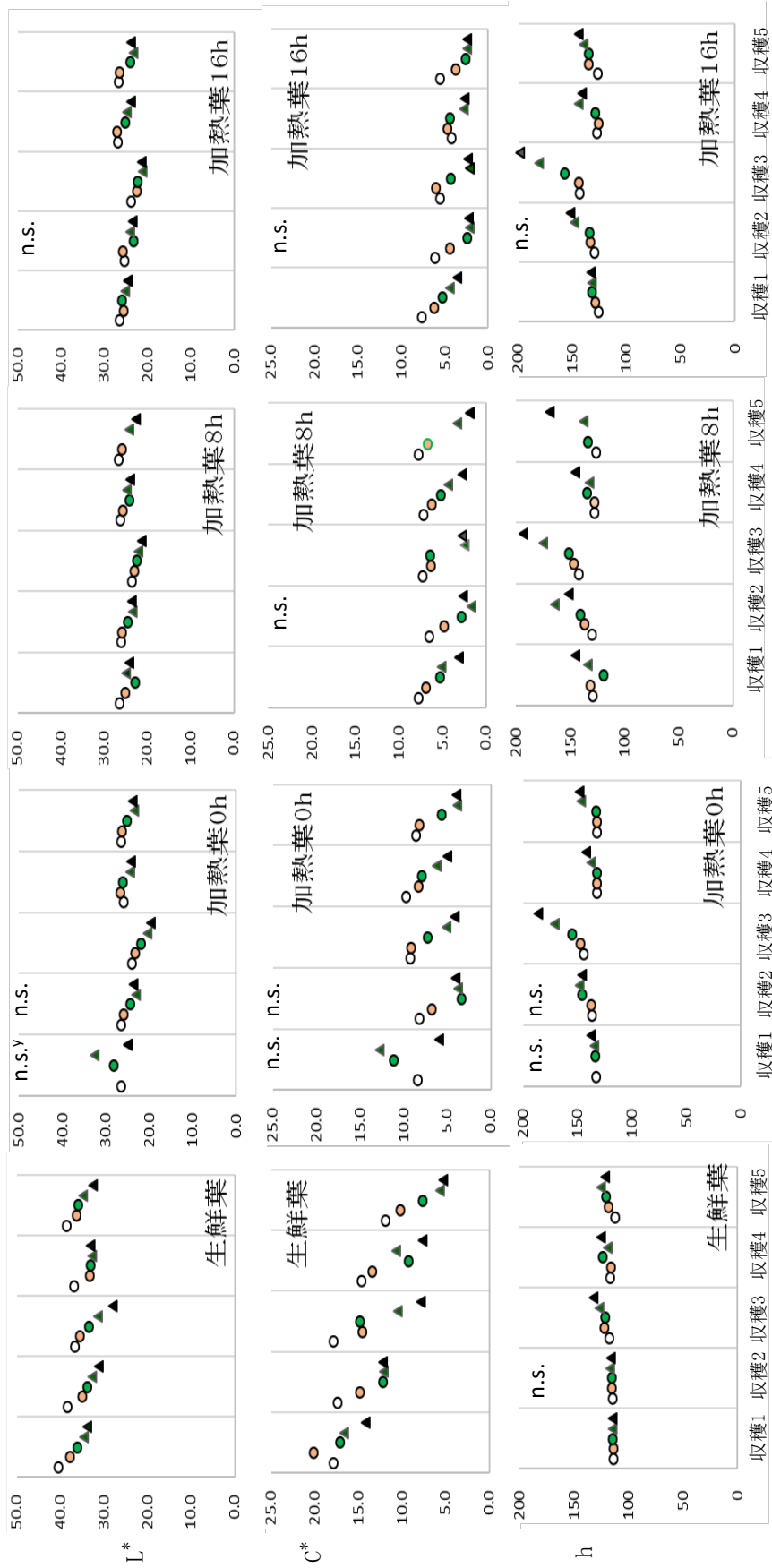


図2-3 0709秋播き（収穫1～3）および0709寒締め（収穫4，5）における生鮮葉および加熱葉の光照射後（0h，8h，16h）の官能評価値²ごとの測色値

²官能評価値：ごく薄い（1）～ごく濃い（5） ○ 1 ● 2 ▲ 3 ▲ 4 ▲ 5

収穫日には第2表を参照。収穫ごとに同じ品種の測色値の平均を図に示す。収穫によっては該当する官能評価値がない場合もある。生鮮葉では収穫1～3では‘スーパーアリーナ’，収穫4・5では‘寒味’を基準（3）として相対評価を行った。加熱葉では加熱後に光照射0，8，16hのそれぞれで中庸な品種を基準（3）として相対評価を行った（収穫間での比較，生鮮葉と加熱葉などの比較はできない）

³スピアマンの順位相関分析の結果，収穫ごとに官能評価値と測色値との間に，n.s.で示した収穫以外では5%水準で有意に相関があった

かったが、全体の傾向としては生鮮葉と同様に、 L^* および C^* が低く、 h が大きいと濃いと評価された。色相角度 h は本試験の範囲内では、角度が大きくなるほど緑方向へ、小さくなるほど黄方向へ色相が動いたことを示している。これらのことから、加熱後の光照射によって、明度が高いまま、彩度が低下し黄色みが強くなった時に葉色が淡い、つまり「劣化」と認識されると考えられた。なお、寒締めによって達観では葉色が濃くなったが、測色値を全品種で比較すると、彩度 C^* が 0709 秋播きでは平均 14.4、0709 寒締めでは平均 9.9 となり、 t 検定により 1% 水準で有意に減少しており、明度 L^* および色相角度 h については有意な差はなかった。寒締めによる生鮮葉の葉色の違いは、主に彩度の低下によるものであり、色相が黄方向へ変化していないため「劣化」としては認識されず、緑色が濃くなったと認識されたと考えられる。

次に、葉色の濃さが光照射下での色の变化に与える影響を検討した。加熱後の光照射後の色差と生鮮葉の官能評価値を図 2-4 に示した。葉色の变化は主に光照射 0 h から 8 h で大きく、収穫 1 の官能評価 1 を除いて、いずれの収穫でも色差は NBS 単位で「かなり (1.5 ~ 3.0)」感じられるより大きかった。光照射 8h から 16h での色差は、多くが NBS 単位で「わずかに感じられる (0.5 ~ 1.5)」範囲であった。収穫 4 および 5 では、色差と葉色の濃さに 5% 水準で有意な相関が見られ、葉色が濃いと色の变化が小さい傾向があったが、

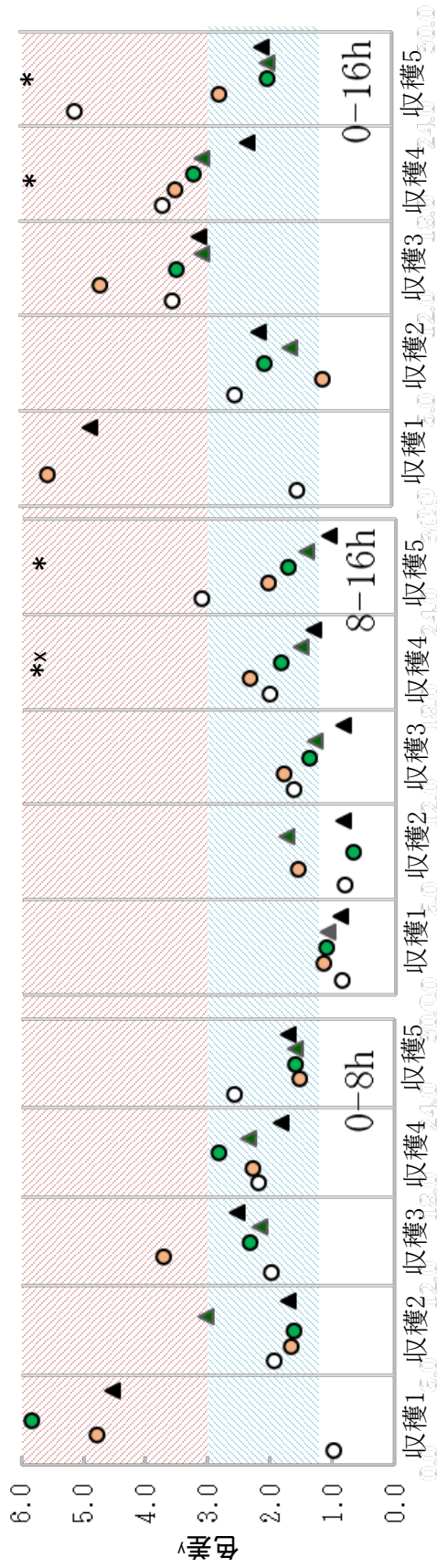


図2-4 0709秋播（収穫1～3）きおよび0709寒締め（収穫4，5）における生鮮葉の官能評価値²と加熱葉の光照射下での色差

（左：光照射0hと光照射8hの色差 中：光照射16hの色差 右：光照射0hと光照射16hの色差）

²官能評価値：ごく淡い(1)～ごく濃い(5) ○1 ●2 ●3 ▲4 ▲5

官能評価は生鮮葉の値で示す。

収穫1～3では‘スーパーアーナ’，収穫4・5では‘寒味’を基準(3)として，ごく淡い(1)～ごく濃い(5)の5段階で表記した相対評価を行った（異なる収穫間での比較はできない）

収穫日に関しては表2-2を参照

³色差は，照射0h，8h，16hの測色値の差を△として， $(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2$ の1/2として算出した

NBS単位で，色の違いの感じ方により，かすか(0～0.5)，わずか(0.5～1.5)，かなり(1.5～3.0)，目立って(3.0～6.0)，大いに(6.0～12.0)，多大に(12.0～)に分けられる

上の赤斜線部分は，NBS単位で色の違いが目立って感じられる(3.0～6.0)，下の青斜線部分はかなり(1.5～3.0)感じられるに含まれる範囲を示す

収穫ごとに，同じ官能評価値であった品種の色差の平均で示す

⁴スピアマン順位相関分析の結果，生鮮葉の官能評価と加熱葉の光照射後の色差の間に5%水準で*で示した収穫で有意に相関があった

その他の収穫では同様の傾向は見られず，光照射による色の変化の程度は葉色の濃淡に関わらないと考えられた．

官能評価と測色値との関係を再確認するため，葉色が市販品種の中でもとりわけ淡い品種および本試験で得られた濃い品種を供試した 0810 秋播きにおける加熱後の葉色変化を表 2-4 に示す．‘日本’は生鮮葉，加熱葉の光照射後のいずれにおいても官能評価でごく淡く，彩度 C^* ，明度 L^* ともに供試した 6 品種中で最も高く，色相角度は最も小さくなった．この結果は，彩度および明度が高く，色相角度が小さい品種を淡いとするこれまでの結果を支持するものであった．色差は，光照射 0 h から 16 h では，いずれの品種でも NBS 単位で「かなり感じられる (1.5-3.0) ~ 大いに感じられる (6.0-12.0)」とされる範囲に入っており，照明下に置くことでいずれの品種も葉色が変わった．しかし，葉色の濃い品種は，葉色がごく淡い‘日本’と比べ，時間経過による色差の変化が小さかった．これらの変色の差がクロロフィルからフェオフィチンへの変化率に因るものであるかを検討した結果 (表 2-4)，加熱後にフェオフィチンへの変化は確認できたが，品種間の変化率と葉色の関係は明確ではなく，代谷ら (1972) の結果と一致した．0709 秋播きおよび 0709 寒締めで供試した品種は市販品種の中から濃い品種を選定しており，‘日本’ほど淡い品種は含まれていない．これらのことから，ある程度の葉色の濃さを持つ品種においては、照明下では一

表2-4 0810秋播きにおける加熱後の光照射による葉色変化の品種間差異

品種名	葉色の官能評価 ^z と測色値 ^y												0hと16h の 色差 ^x	フェオフィチン 変化率 (%) ^w	
	生鮮葉				加熱葉・光照射0h				加熱葉・光照射16h					0h	16h
	官能	L*	C*	h	官能	L*	C*	h	官能	L*	C*	h			
ミラージュ	5	28.9cd	6.6c	130.2a	5	22.4b	4.1	148.7b	5	23.9	1.5a	160.5	4.3	3.1	7.9
サブライズ	4	29.8bcd	8.0bc	122.4b	4	24.0b	4.7	141.7a	4	23.5	1.2a	150.0	3.7	2.3	6.8
シナジー7	4	30.7bd	7.7bc	120.7bc	4	23.0b	4.4	143.0a	4	23.3	0.9a	227.1	4.0	3.6	9.1
スーパーアリーナ	3	30.4bd	8.3bc	119.2b	4	23.8b	5.3	139.3a	4	23.8	1.2a	206.1	4.3	2.9	7.0
ヴィジョン	3	31.8ab	10.1bc	118.8bd	4	22.8b	4.6	140.8a	4	23.7	1.4a	167.4	3.7	4.7	11.3
日本	1	33.8a	17.5a	114.7cd	1	28.1a	7.6	135.5a	1	24.8	3.6b	133.5	6.6	4.5	9.8

^z 6品種の中で, 5 (ごく濃い) ~ 1 (ごく淡い) の5段階の相対評価

^y 生鮮葉, 加熱葉・光照射0h, 16hの各測色値についてTukey-kramer検定により5%水準で異なるアルファベット間で5%水準で有意差があった

^x 加熱後の光照射0hと16hについて色差を算出した (算出式については図2-4を参照)

^w 生鮮葉の総クロロフィル含量を基準とした変化率

様に葉色が劣化するが，市販品種の中でも淡い品種を用いた場合はより劣化の程度が大きくなる可能性が考えられる。

本試験で用いた品種では，生鮮葉の官能評価値と加熱後の変化の程度に明確な違いがなかったことから，生鮮葉で濃い品種を用いることが加熱後の良好な葉色を保持するのに有効であることが明らかとなった。

各収穫における葉身の色の官能評価と Brix 糖度およびビタミン C 含量を表 2-5 に示す。各収穫における Brix 糖度およびビタミン C 含量をみると，官能評価（葉色の濃さ）と両含量は収穫 1 で有意な正の相関がみられたが，その他の収穫では無関係であった。一方，0709 秋播き（収穫 1～3）と寒締め（収穫 4，5）を比較すると，これまでの報告（加藤ら，1995）と同様に寒締めによる糖度および総ビタミン C 含量の増加が見られた。なお，葉柄の Brix 糖度は寒締め前後の平均がそれぞれ 6.5° ， 11.6° であり，生鮮葉と同様に増加が見られた。寒締めによる糖度の増加には品種間差があり，最も上昇率が高かった‘オーライ’では寒締め前と比較して 5.5 倍に，最も低い‘マゼラン’では 1.1 倍となった（データ略）。この上昇率の違いの原因は，早晚性の違いによる 0709 秋播きの収穫時期の差と，品種の反応性の差の 2 つが考えられる。収穫時期の差について，和泉ら（2008）は，収穫時期が秋から冬になるにつれて，糖度が上昇することを報告している。本試験の栽培期間では慣行の栽

表2-5 0709秋播きおよび0709寒締めにおける生鮮葉の官能評価²⁾と葉身のBrix糖度および総ビタミンC含量

試験区 ^z	官能評価 ^y	品種数	° Brix		総ビタミンC含量 (mg/100g)	
			平均	(範囲)	平均	(範囲)
0709秋播き 収穫1	1	1	4.0	-	11.0	-
	2	5	4.1	(4.4~3.8)	9.5	(14.3~3.7)
	3	6	4.2	(5.0~3.8)	26.9	(43.1~14.5) *
	4	4	4.9	(5.6~4.2)	26.1	(54.2~9.8)
	5	3	4.6	(5.4~4.2)	24.6	(27.4~21.5)
0709秋播き 収穫2	1	1	4.9	-	29.0	-
	2	1	5.5	-	31.7	-
	3	4	5.3	(5.9~4.9)	47.4	(56.5~39.1) n. s.
	4	1	6.2	-	48.2	-
	5	1	5.1	-	37.6	-
0709秋播き 収穫3	1	2	6.9	(7.3~6.4)	28.1	(29.7~26.5)
	2	2	6.7	(7.1~6.3)	63.1	(83.5~42.7)
	3	5	7.2	(8.6~6.5)	46.5	(80.6~24.2) n. s.
	4	7	6.8	(8.0~5.1)	56.8	(76.7~31)
	5	4	6.6	(7.9~5.7)	51.9	(84.5~25.5)
0709寒締め 収穫4	1	9	10.6	(22.8~6.7)	120.5	(217.8~42.5)
	2	2	16.5	(17.2~15.8)	185.4	(229.5~141.2)
	3	5	13.4	(18.3~7.2)	94.5	(179.1~28.6) n. s.
	4	8	11.9	(17.1~7.1)	151.5	(197.3~100.3)
	5	1	12.8	-	150.9	-
0709寒締め 収穫5	1	2	9.8	(9.9~9.7)	69.1	(99.9~38.3)
	2	7	12.7	(18.2~9.2)	90.9	(130.8~44.4)
	3	6	12.0	(16.7~7.5)	102.7	(151.4~64.5) n. s.
	4	6	14.6	(19.5~10.4)	103.4	(139~46.6)
	5	2	12.4	(13.1~11.7)	82.6	(108.2~57)
0709秋播き(収穫1~3)	47	5.6	(3.8~8.6)	37.3	(84.48~3.7)	**
0709寒締め(収穫4・5)	48	12.4	(6.7~22.8)	113.9	(229.5~28.6)	**

^z 収穫日に関しては第2表を参照

^y 収穫1~3では‘スーパーアリーナ’，収穫4・5では‘寒味’を基準(3)として，5(ごく濃い)~1(ごく淡い)の5段階で表記した相対評価を行った(収穫間での比較はできない)

^x スピアマン順位相関分析により，収穫ごとに官能評価値とBrix糖度または総ビタミンCとの間に5%水準で*で示した収穫を除いて相関はなかった

^v Brix糖度および総ビタミンC含量において，0709秋播きと0709寒締めではt検定で1%水準で有意差があった

培であっても気温の低下が始まる時期に入っており、緩い寒締めのような状態になっていると考えられる。そのため、‘マゼラン’など晩生で収穫が遅かった品種では 0709 秋播きにおける糖度が高い結果、寒締めによる糖度の上昇率が低く、反対に‘オーライ’のような早生の品種では寒締めによる糖度の上昇率が高くなったと考えられた。0709 秋播きにおいて収穫日を変えて収穫した、‘寒味’の葉身の糖度に注目すると、収穫 1 で 5.0° 、収穫 2 で 6.6° 、収穫 3 で 8.0° となり、収穫時期が遅くなるにつれて上昇した。しかし、品種ごとに見ていくと、中には‘ミラージュ’や‘クロノス’のように早生でも寒締め後の上昇率が鈍い品種や、‘冬霧 7’や‘スペードワン’のように晩生で増加率が高い品種もあり(データ略)、品種により反応性に差異があることも推測された。

総ビタミン C 含量の増加率にも品種間差があった。‘サマーキープ’や‘プリウス’のように寒締め前と比較して 1.2~1.5 倍とほぼ同等の品種や、16.0 倍と最も増加率が高かった‘アスパイアー’から、逆に 0.6 倍と減少した‘冬恵 7’まで変異が見られた(データ略)。成分別にみると、寒締めによる増加は主にアスコルビン酸の増加によるものであり、デヒドロアスコルビン酸は寒締め栽培によって t 検定により 1% 水準で有意に減少していた(データ略)。ハウレンソウのアスコルビン酸含量は季節変動すると同時に、収穫前日の日射量によっても変動する(吉田・浜本, 2010)ため、収穫

日の異なる品種の含量差には日射量も影響していると考えられる。

葉色と Brix 糖度および総ビタミン C 含量との関係はこれまで報告がないが、官能評価で濃い(4, 5)品種および官能評価で淡い(1, 2)品種には、それぞれ含量が高いものから低いものまで大きな変異があり、両含量は品種の葉色とは関係がないことが明らかとなった。寒締め栽培によって葉色は濃くなり、Brix 糖度および総ビタミン C 含量も増加するが、増加率には大きな品種間差があるため、内容成分の増加を目的として栽培を行う場合は品種ごとの特性を検討したうえで慎重に選択する必要がある。山田ら(2003)も7品種の栽培比較を行い、内容成分の面では推奨される播種期の品種を用いることが必ずしも最適とはいえないとしている。青木ら(1997)も伸長性によって内容成分が異なることを示唆している。

以上のように、加熱したハウレンソウの光による経時的な葉色の劣化は、生鮮葉で葉色の濃い品種を選択することで回避することが可能であった。加えて、寒締め栽培を行うことで良好な葉色を保持し、Brix 糖度、アスコルビン酸含量が高いハウレンソウを得ることが可能であった。一方、今回の研究ではまず葉色の変化についての知見を得るために通常出荷のサイズでの生産性や作業性から品種を選択したが、加工用として生産する場面では、葉長 40 cm 前後まで育てるため、在圃性や大株での葉色などを考慮していく必要がある。また、寒締め栽培における糖度やビタミン C 含量に表 2-5

に示すように極めて大きな品種間差が認められたことは注目に値する。これまで、寒締め用のハウレンソウ品種は開帳性で葉にしわが多いといった見た目で売り込まれてきたきらいがあるが、寒締めの特性、すなわち高品質であることをさらに前面に押し出して有利に販売するため、今後は含有成分や食味に着目し品種選択を進めることの重要性が増すと考えられる。

第 3 章 ホウレンソウの低温伸長性に関する品種間差異の解析

序論

ホウレンソウは冷涼な気候に適した野菜であり、温暖地では秋～冬期に、寒冷地では夏秋期に多く栽培されている。これまで寒冷地では厳寒期に氷点下の気温が続くほど低温となるため栽培に適さなかったが、近年は、寒さを活かした寒締め栽培が導入されている。第 2 章でも述べたように、寒締め栽培では、葉色が濃く、栄養価も高くなり品質が優れる（加藤ら，1995；岡田ら，2005；田村，2004）。生産者にとってはこれまで不可能であった時期に収穫でき、消費者・実需者にとってはより高品質な野菜が得られる栽培方法である。冬季の栽培では、低温伸長性が高い品種が用いられるが、短日期のため抽だい性は重要視されておらず、天候不順や播種のわずかな遅れ、街路灯などの夜間照明によって、出荷サイズとなる前に抽だいする危険性を抱えている。

低温伸長性と抽だいの早晩の関係は明らかとされておらず、杉山（1990）は短い長日条件がホウレンソウの抽だいには影響せず、栄養成長にのみ促進効果があることを報告している。本章では低温伸長性について、品種による反応の違いと日長の影響について検討を行った。

試験 1 伸長性の品種間差

冬季には十分な温度が確保された温室内での栽培であっても、品種によっては著しい生育の遅延が見られ、低温の影響のみでは冬季の伸長性の品種間差異を説明できない。晩抽性品種では夜間照明下で早生性の品種より生育が遅いことが報告されており(高尾, 1998), 晩抽性品種と早生性品種では抽だい性のみならず伸長性にも差異があると考えられる。本試験では、日長と温度が伸長性に与える影響を調査し、品種間差異を明らかとする。

材料および方法

1. 材料および栽培方法

1) 異なる日長下での伸長性の品種間差異

F₁ 品種 ‘プラトン’, ‘SP145’, ‘朝霧’, ‘ハヤテ’, ‘まほろば’, ‘ウィリアム’, 固定品種 ‘若草’, ‘ノーベル’ の 8 点を供試した。催芽後, 2005 年 5 月 16 日にガラス温室内の 18 cm ポットに播種し, 子葉が展開した 5 月 20 日に 8 時間日長 (8 h 区) および 13 時間日長 (13 h 区) に設定した自然光型日長調節装置に移動した。温度は成りゆきとした。5 月 31 日から数日おきに葉数および葉長の測定を行った。日長区ごとに各品種 4 株を供試した。

2) 幼苗期の日長が生育に与える影響

幼苗期の日長がその後の生育に及ぼす影響を検討するため,

‘ハヤテ’, ‘ウィリアム’, ‘若草’の3品種を用いて試験を行った。催芽後, 2006年2月28日に最低気温約15℃に制御したガラス温室内の18cmポットに播種した。播種はポットあたり3粒とし, 子葉の展開時に間引き, 1ポットあたり1株とした。子葉が展開した3月15日, 8時間日長(8h区)および13時間日長(13h区)に調節した, 自然光型日長調節装置内のビニールハウスに各品種10株を移動した。また, 温室内の自然日長下でそのまま栽培を継続した自然日長区(N区)を設けた。日長調節装置内は, 最低気温が約5℃以上となるように加温した。播種27日後に, 各日長区について5株を入れ替え(8-13h区, 13-8h区, N-8h区, N-13h区), 栽培を続けた。栽培期間中, 3~4日ごとに葉数, 葉長を測定した。播種63日後の5月2日に地上部を株重および乾物重測定のためにサンプリングした。

2. 株重および乾物重の測定

地上部を地際で刈り取り, 株ごとに新鮮重を測定後, 70℃で風乾し乾燥重を測定した。

3. 葉長および葉数の測定

株ごとに最大葉の葉身と葉柄の長さを測定し, 合算し全長とした。葉数は, 葉柄が目視できた葉の枚数を株ごとに調査した。子葉および初生葉は除外した。

結果および考察

1) 異なる日長下での伸長性の品種間差異

試験期間中の平均気温は、8 h 区で 21.2 °C、13 h 区で 20.6 °C となりほぼ同じであった。6 月 24 日の調査において、葉数はすべての品種で 13 h 区が 8 h 区より多く、‘まほろば’、‘ウィリアム’、‘若草’を除く 5 品種では有意に増加した（図 3-1）。全長は、すべての品種で 13h 区が 8h 区よりも有意に増加した（図 3-2）。6 月 24 日時点の‘プラトン’の 13 h 区的全長を 100 として品種間の相対的な生育を比較したところ、13 h 区での生育は‘ハヤテ’や‘若草’は‘プラトン’とほぼ同等であり、‘ウィリアム’や‘ノーベル’は劣っており、品種により生育に差が見られた（表 3-1）。‘ウィリアム’および‘ノーベル’は極晩抽性の品種であり、このことは、高尾（1998）の同じ夜間照明条件下で、晩抽性品種は早生性品種より抽だいが遅いが、生育も遅かった結果と一致する。一方、13 h 区と 8 h 区の生育を比較（13 h / 8 h）した値はいずれの品種も有意差は見とめられなかった。二元配置分散分析により日長と品種間には有意差が認められたが、交互作用は見られなかった。葉身長および葉柄長においても二元配置分散分析により日長と品種の関係をみたところ、葉身長では日長による有意差は認められたが、品種間差および交互作用はなく、葉柄長では日長、品種間差、交互作用のいずれも有意であった。このことから、長日によ

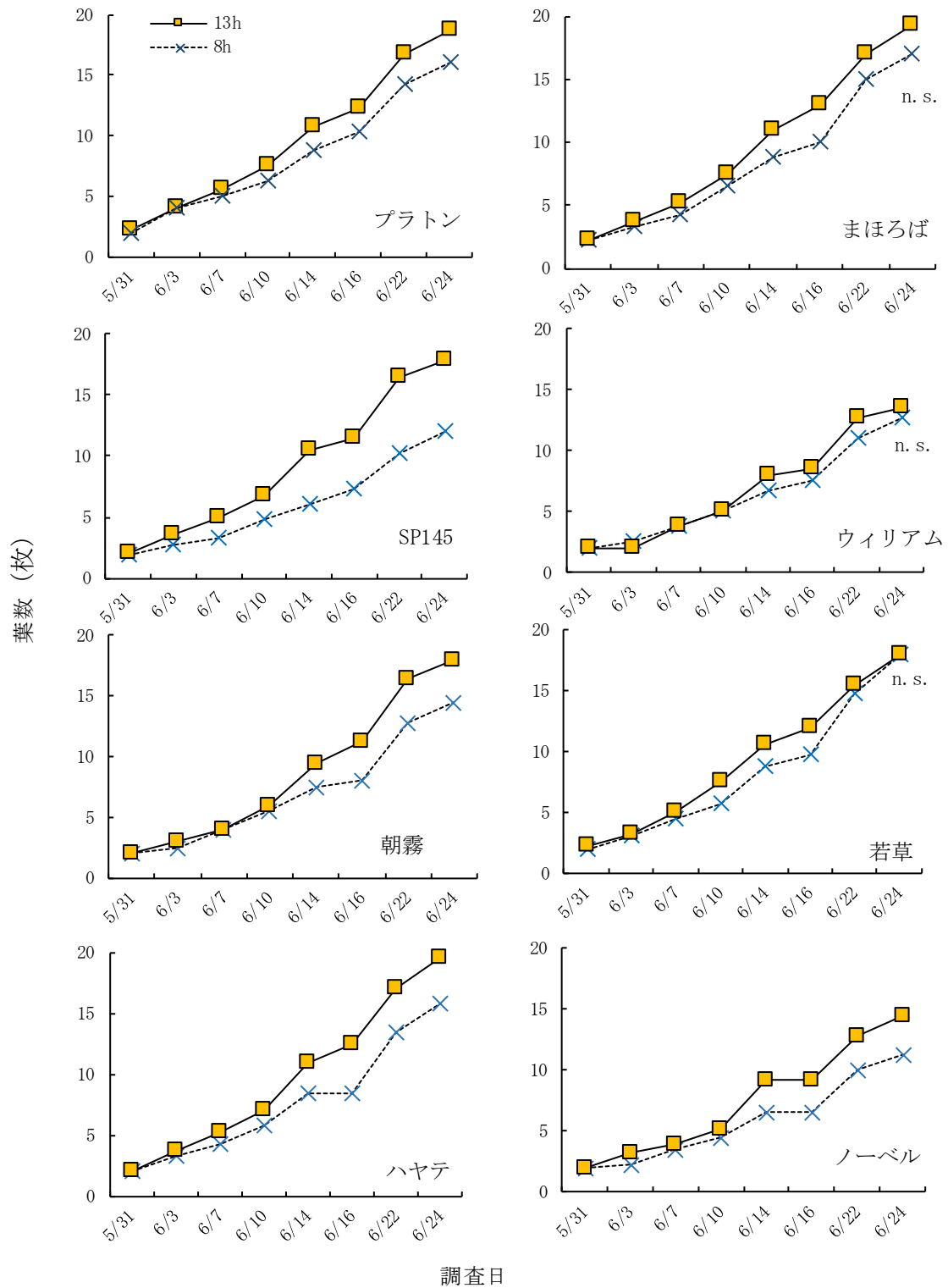


図3-1 異なる日長下での葉数の変化

6/24の調査において、n. s.を表記した品種を除いて、t検定により5%水準で葉数に8hと13hで有意差を示す。8hは8時間日長、13hは13時間日長を示す。

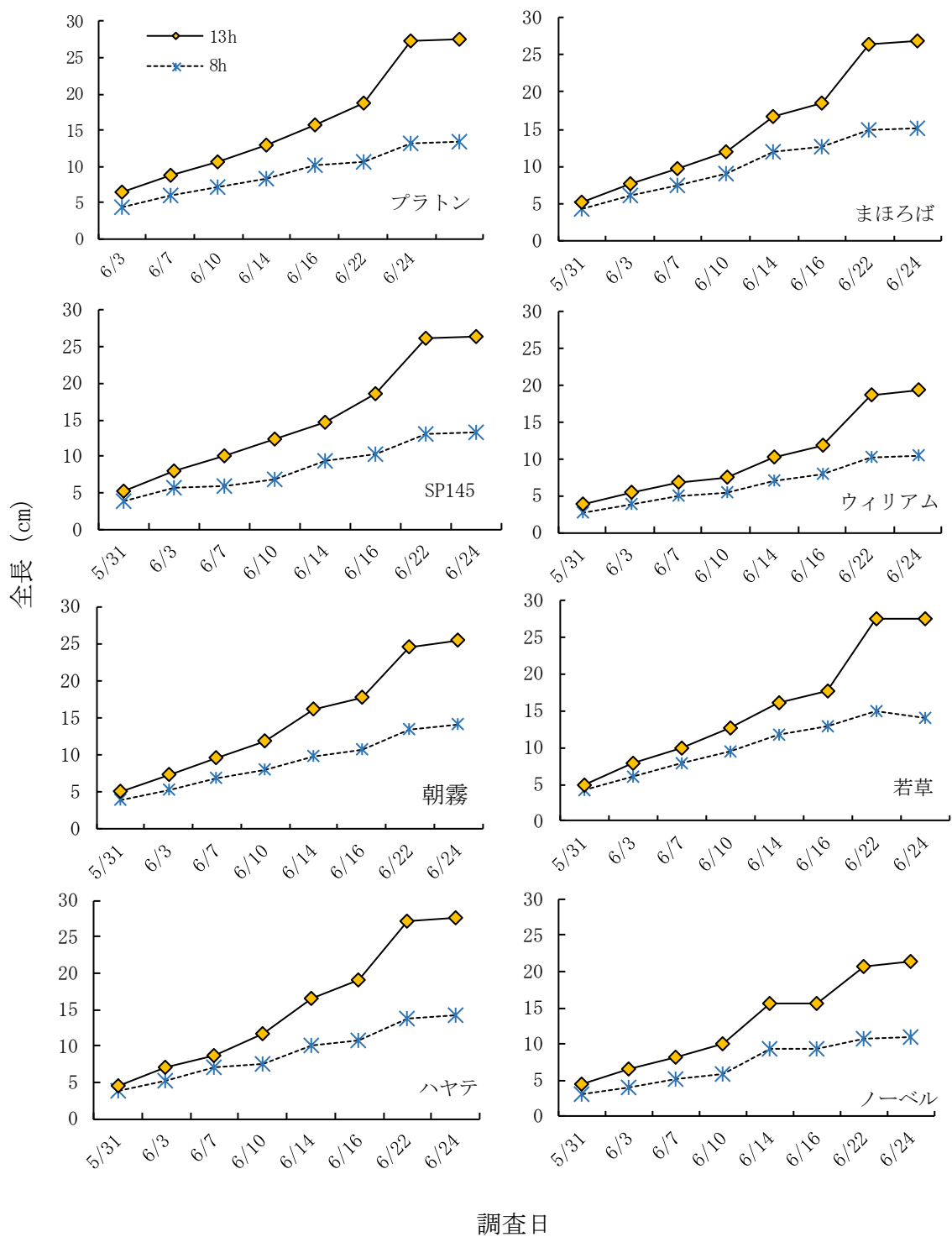


図3-2 日長の違いが生育(全長)に与える影響

6/24の調査において、すべての品種でt検定により1%水準で全長に8hと13hで有意差あり

8hは8時間日長、13hは13時間日長を示す

表3-1 日長の違いによる生育の品種間差

日長	品種							
	プラトン	SP145	朝霧	ハヤテ	まほろば	ウィリアム	若草	ノーベル
13 h 区	100 ^z	96	92	101	98	70	100	78
8 h 区	49	49	51	52	55	38	54	40
13 h / 8 h	204	196	180	194	178	184	185	195
		全長	葉身長	葉柄長				
二元配置	品種	** ^y	n. s.	**				
分散分析	日長	**	**	**				
	交互作用	n. s.	n. s.	*				

^z ‘プラトン’の全長を100とした時の相対値

8hは8時間日長、13hは13時間日長を示す

^y **は1%水準で有意，*は5%水準で有意，n. s. は有意でないことを示す

る伸長性の品種間差は、主に葉柄の伸長に関して品種の応答に違いがあるためと考えられた。葉柄の伸長については、抽だいにも関与するジベレリンの影響が考えられ、杉山(1990)はジベレリン(GA₃)処理により、長日条件下と同様の葉柄の伸長と直立を確認している。しかし、同論文ではGA₃は植物体内で長日下では別種のジベレリンに転換していると推定されているため(Metzger・Zeevaart, 1982; Zeevaart, 1971)、抽だいと葉柄伸長に関するホルモンは別種であろうと述べている。

2) 幼苗期の日長が生育に与える影響

試験期間中の平均気温は8 h区で14.0℃、13 h区で13.9℃、自然日長区で20.0℃であった。自然日長区における日長は、試験を行った3月15日から5月2日の間、約13時間～15時間であった。日長区ごとの全長を表3-2に示した。秋播きでは播種のわずかな遅れがその後の生育遅延につながるため、幼苗期の日長が生育に影響があるのではないかと考えて試験を行ったが、いずれの品種においても、幼苗期の日長による影響は見られず、生育期の日長が同じ場合には全長に有意な差はなかった。また、13 h区と自然日長のN区の間にも有意な差はなかった。幼苗期の日長の影響が出なかった要因の一つとして、ハウレンソウでは初期生育が緩慢なことが考えられる。今回試験を行った試験地は寒冷的な北東北に位置し、幼苗期に設定した2月末の播種から27日間では、全長はいずれ

表3-2 幼苗期の日長が生育（全長）に与える影響

日長区 ^z		品種 ^y			
幼苗期	生育期	ハヤテ	ウィリアム		若草 ^x
		(cm)	(cm)		(cm)
8h	8h	20.3		16.0	19.6
13h	8h	22.4	n. s. ^w	16.1	n. s.
N	8h	21.1		15.3	22.7
8h	13h	28.2		19.0	23.3
13h	13h	29.5	n. s.	19.1	n. s.
N	13h	27.7		19.2	30.7
N	N	28.5		18.3	24.4

^z 幼苗期は3月15日から3月27日まで、生育期は3月28日から5月2日まで

^y 200年5月2日の平均を示す

^x ‘若草’は8-8h, 13-8h, N-8hを除いて抽だいが始まっていたため、半数以上が抽だいでいない最後の調査日の平均を示す(8-13hは4月21日, 13-13hは4月25日, N-13hは4月28日, N-Nは4月18日) 8hは8時間日長、13hは13時間日長、Nは自然日長を示す

^w n. s. は生育期の日長が同じ区において、品種内で5%水準で有意差がないことを示す

の品種でも 3~6 cm 程度と小さかった。幼苗期には伸長性に日長の影響を受けにくいことも考えられるが、本試験では温度が低く生育がいずれの品種でも停滞したため、幼苗期の生育差が誤差の範囲に収まり、収穫時の生育には反映されなかった可能性もある。低温伸長性が求められる秋播きの播種期である 9 月頃は、本試験と日長は同程度だが、気温ははるかに高く、品種による生育差が現れやすい可能性が考えられる。

幼苗期の日長および 13 h 区と N 区で生育に有意差がみられなかったため、これ以降の結果については、8 h 区および 13 h 区の結果についてのみ記載する。日長が長い 13 h 区において、調査したすべての品種で乾物重および葉長は有意に増加した（表 3-3）。日長による増加には、品種との交互作用が認められた。品種間差をみると、‘ウィリアム’は 8 h 区、13 h 区ともに乾物重および全長が最も低く、‘若草’は 13 h 区における乾物重および全長の増加が著しかった。前年に行ったの 8 品種による試験では、日長による生育（全長）の増加には品種との交互作用は見られなかったが、本試験では交互作用が見られた。両試験時の環境要因を比較すると、前年の試験では 5 月播種、本試験では 2 月末播種と、栽培時期が異なっており、前年の試験の平均気温は約 20℃、本試験では約 14℃であった。本試験においては気温が低いため、生育に日長の影響がより反映された可能性がある。なお、本試験での自然日長区（13~15 h

表3-3 8h区および13h区における乾物重さと全長

		ハヤテ	(8h区に 対する 比率)	ウィリアム	(8h区に 対する 比率)	若草	(8h区に 対する 比率)
乾物重(g)	8h区	7.2	b ^z	5.0	a	6.5	ab
	13h区	10.6	b (148)	7.4	a (150)	12.2	c (189)
	有意差	* ^y		**		**	
品種と日長の交互作用(乾物重)					** ^x		
全長(cm)	8h区	19.1	b	13.9	a	18.7	b
	13h区	22.6	b (119)	15.5	a (112)	27.0	c (144)
	有意差	*		*		**	
品種と日長の交互作用(全長)					**		

^z 同じ日長において、異なる英文字間に5%水準で有意差有り

^y 同じ品種内で、8hと13hで*は5%水準で有意差あり、**は1%水準で有意差あり

^x 二元配置分散分析により、**は1%水準で交互作用あり

日長)では, 13 h 区の平均気温より約 6°C 高かったが, 乾物重・葉長ともに, 品種内での有意差は見られなかった(データ略). 同じ品種で比較した場合, 13~15 時間程度のやや長い日長下においては, 温度の影響は限定的なのかもしれない.

試験 2 個葉の光合成能力と伸長性について

試験 1 より, 日長の長短がハウレンソウの伸長性に与える影響は大きく, またその程度は品種によって異なることが明らかとなった. 特に, 気温の低い時期には伸長性に対して日長の影響が大きい可能性があった. ここでは, 極低温下に長期間さらされる寒締め栽培と, 緩やかな低温での栽培を行い, 低温下での個葉の光合成能力と葉の伸長性の関係について検討した.

材料および方法

1. 材料および栽培方法

1) 寒締め栽培

‘まほろば’, ‘朝霧’, ‘若草’, ‘日本’, ‘雪美菜’, ‘寒味’, ‘サイクロン’, ‘プライド’, ‘オーライ’, ‘ヴィジョン’, ‘晩抽サンホープ’, ‘サマーキープ’, ‘冬恵 7’, ‘冬霧 7’ の計 14 品種を供試した. 催芽後, 2009 年 10 月 16 日に無加温のハウス内に播種し, 2010 年 1 月 8 日より側窓を開放し, 寒締め処理を開始した. 1 区 25 株 2

反復で品種あたり計 50 株とした。2009 年 12 月 22 日，1 月 26 日，3 月 5 日に，各品種 5～10 株について全長および株重の測定を行うとともに，適宜，光合成の測定を行った。

2) 緩やかな低温下での栽培

‘まほろば’，‘若草’，‘バイキング’，‘ウィリアム’の 4 品種を供試した。催芽後，2009 年 9 月 17 日に 18 cm ポットに播種し，ガラス温室内で栽培した。各品種 5 株を栽培し，10 月 15～17 日に全長および光合成の測定を行った。

2. 全長および株重の測定

1) 寒締め栽培

品種ごとに 5～10 株について，地際部で切除し，株ごとに最大葉の全長と株重の測定を行った。

2) 緩やかな低温下での栽培

光合成速度の測定後に，品種ごとに 3 株について，地際部で切除し，株ごとに最大葉の全長を測定した。

3. 個葉の光合成速度の測定

1) 寒締め栽培

試験 1 において伸長速度に差のあった，‘まほろば’，‘朝霧’，‘サイクロン’，‘若草’の 4 品種について，2 月中～3 月上旬に各品種 1～2 株について光合成速度の測定を行った。測定は光合成測定装置 (LI-6400, Licor) を用い，ハウス内で行った。寒締めによる凍

害のない，健全な展開葉のうち最大葉の中央部について，4段階の温度（20℃，15℃，10℃，5℃）で，光強度0～2000PPFD，CO₂濃度380ppmにおける光合成速度を測定した．

2) 緩やかな低温下での栽培

最大葉の光合成速度を10月15～17日に測定した．測定温度は4段階（25℃，20℃，15℃，10℃）で，光強度とCO₂濃度は寒締め栽培と同様である．

結果および考察

寒締め栽培を行った14品種の伸長程度は，12月22日で約10～17cm，3月5日で約13～22cmの品種間差があった（表3-4）．伸長の仕方には，最初から伸長が早い‘若草’や‘日本’，‘オーライ’，最初から伸長が緩慢な‘寒味’，‘サイクロン’，‘晩抽サンホープ’，‘冬恵7’，‘冬霧7’，最初は伸長するが後半に停滞する‘まほろば’，および中間の生育を示す‘朝霧’，‘雪美菜’，‘ヴィジョン’，‘サマーキープ’など，いくつかの特徴に分けられた．最も全長が長い‘オーライ’では，最初から伸長が早かったため，増加幅は大きくなかった．‘若草’では1月26日から3月5日の間の伸長性が高く，12月22日からの増加幅は最も大きくなった．株重は，1月26日から3月5日の伸長の程度とは関係なく1月26日から3月5日の間に大幅に増加した．この原因として，寒締め処理のため糖が

表3-4 極低温下での伸長性の品種間差

調査日	品種														
	まほろば	朝霧	若草	日本	雪美菜	寒味	サイクロン	ブライド	オーライ	ヴィジョン	晩抽 サイクロン	サマー キープ	冬恵7	冬霧7	
全長 (cm)	12月22日	16.9	11.8	15.6	15.3	11.7	10.7	10.6	13.5	16.3	12.0	11.4	11.8	9.7	10.5
	1月26日	19.2	14.6	17.9	17.2	14.0	13.2	11.9	15.1	17.7	15.3	13.9	12.5	11.8	12.2
	3月5日	18.9	16.4	21.9	19.9	14.6	13.9	12.5	19.2	20.7	16.9	15.0	15.8	13.8	13.2
	増加(cm) ^z	2.0	4.6	6.2	4.6	2.9	3.3	1.9	5.7	4.4	4.9	3.5	4.0	4.0	2.7
株重 (g)	12月22日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1月26日	28.2	21.7	24.9	23.6	28.5	20.3	21.2	23.6	25.9	28.6	23.2	16.4	20.3	17.7
	3月5日	56.3	57.0	58.9	45.7	48.3	40.4	41.7	53.9	68.0	61.1	46.2	42.8	53.1	42.3
	増加(g) ^y	28.2	35.3	34.0	22.0	19.8	20.1	20.5	30.3	42.2	32.5	22.9	26.4	32.8	24.6

^z 3月5日の測定値から12月22日の測定値を引いた値。測定値には5~10株の平均値を用いた。

^y 3月5日の測定値から1月26日の測定値を引いた値。測定値には5~10株の測定値を用いた。‘-’は欠測値を表す。

蓄積されたためと考えられる(加藤ら, 1995; 本論文第2章). 緩やかな低温下のポット栽培においても, 最も伸長の早い‘若草’では全長 32.1 cm, 株重 38.9 g (各 3 株平均) であり, 最も伸長が遅い品種‘ウィリアム’では全長 19.2 cm, 株重 21.5 g (3 株平均) となり, 大きな生育差が認められた(データ略). ‘まほろば’は‘若草’と同等の生育であり, ‘バイキング’は‘ウィリアム’と同等の生育であった(データ略).

寒締め栽培した植物体における光合成速度を図 3-3 に示す. 測定時の設定温度は 5~20 °C としたが, 実測の葉温では, 約 7~18 °C であった. ‘まほろば’では 20 °C での光合成速度が最も高く, 5 °C, 10 °C, 15 °C では低く, それらの間に大きな違いはなかった. ‘朝霧’の光合成速度はどの温度でもほぼ同等であり, ‘まほろば’の 20°C の光合成速度よりやや高かった. ‘サイクロン’および‘若草’の光合成速度は, どの温度においても他の品種より低かった. ただし, ‘若草’では展開した葉の劣化が他の 3 品種より大きく, 凍害までは行かないが障害を受けているように見受けられ, 寒締めなど圃期間の長いタイプの栽培には向いていない品種と思われた. ‘若草’を除いた 3 品種では, 生育と個葉の光合成速度との関係を見ると, 生育の後半まで伸長性が高かった‘朝霧’では低温でも光合成速度が高く, 伸長性が劣った‘サイクロン’では光合成速度が低かった. また, 生育の前半では伸長性が高く, 後半に伸長性

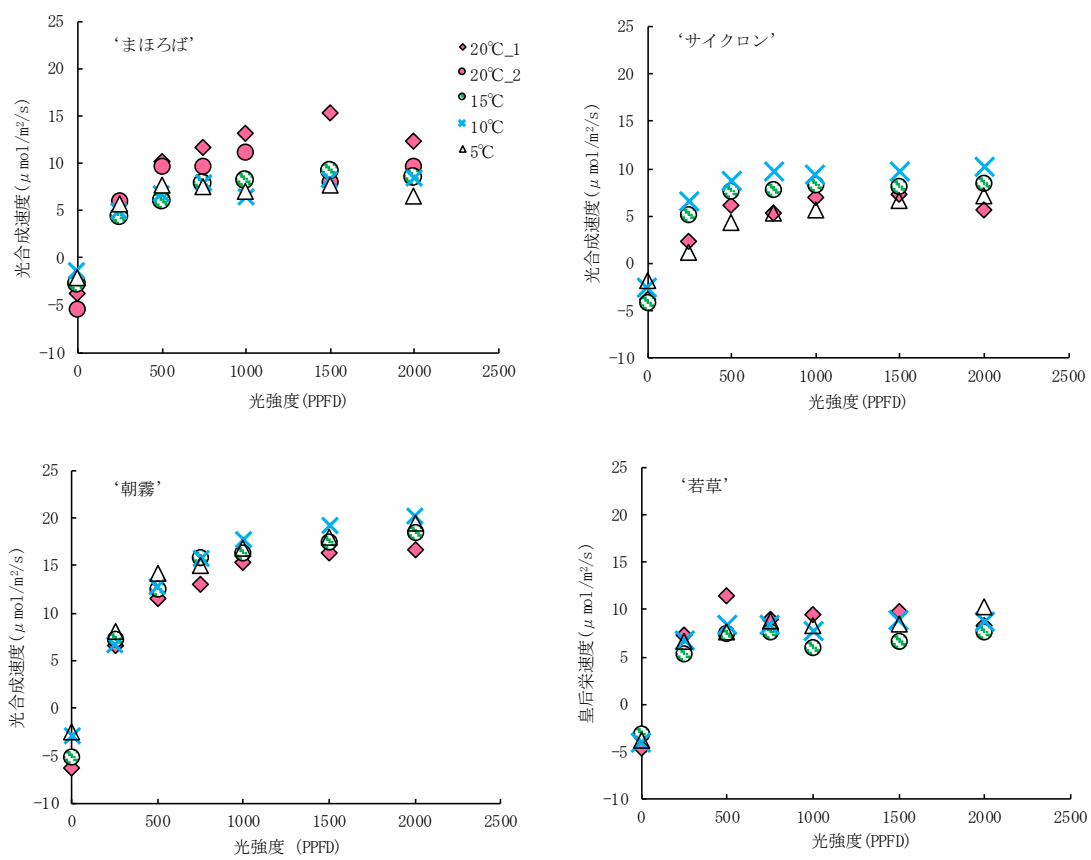


図3-3 寒締め栽培中の伸長性の異なる品種の光-光合成曲線
 図には、個体の測定値をそのまま用いた

が落ちた‘まほろば’では低温で光合成速度が落ちるという結果になった。サンプル数が少ないため一概には言えないが、光合成速度が低温での伸長性の品種間差のひとつの要因となっていると推測できた。ハウレンソウの光合成速度は栽培温度に順化し、低温で栽培されるほど光合成速度の最適温度が低くなることが報告されている (Yamori ら, 2005)。栽培温度によって、光合成に関わる気孔コンダクタンスや CO₂ 固定酵素 (Rubisco) の温度依存反応が変化し、低温順化したハウレンソウ葉では、低温側で光合成を効率的に行うようになる (Yamori ら, 2006ab)。品種間差についての報告はないが、本試験の結果からは、生育の後半に伸長性が落ちた‘まほろば’では温度低下に伴う低温への順化が他の品種よりも劣る可能性がある。緩やかな低温下で栽培を行った時の光合成速度の結果を図 3-4 に示す。設定温度は 10~25 °C であったが、実測の葉温では約 13~23 °C であった。伸長性が高かった‘まほろば’および‘若草’では 10~25 °C のいずれの温度でも、光合成速度が高かった。一方、伸長性の低かった‘バイキング’および‘ウィリアム’では光合成速度が‘まほろば’や‘若草’よりやや低かった。特に‘ウィリアム’では 15~25 °C では‘まほろば’と同程度だったが、10 °C で大きく低下した。極低温の寒締め栽培と同様に、伸長性の劣る品種では低温での光合成能力が低い可能性が示唆された。

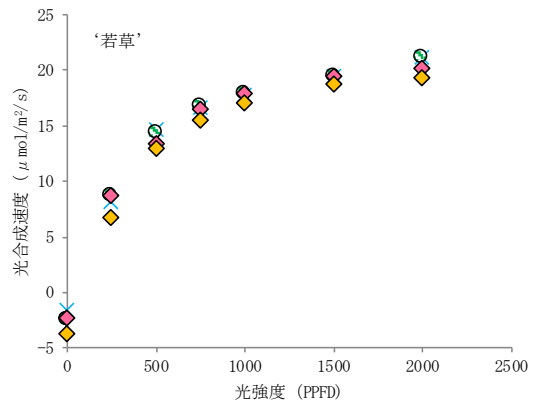
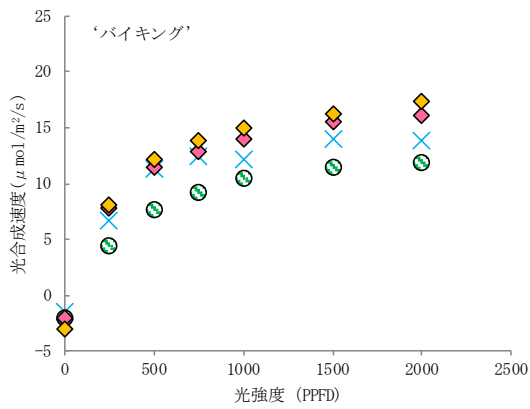
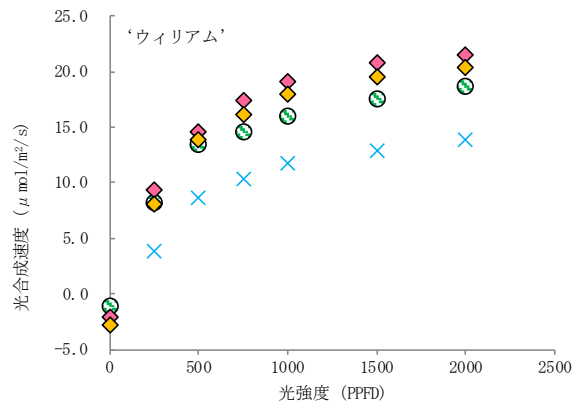
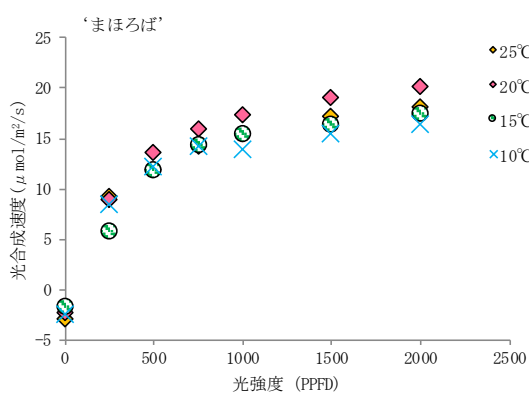


図3-4 緩やかな低温下で伸長性の異なる品種の光一光合成曲線
 図には、4個体の測定値の平均を用いた

寒締め栽培では，植物体は極低温に 2 週間以上さらされ，吸水も制限されているが，光強度に応じた活発な光合成が維持されていた．光合成測定を行った期間の葉温は，日射がある場合は寒冷地の冬期であっても光合成をおこなうのに十分に上昇しており，冬～秋期の伸長速度の品種間差には，低温下における光合成能力の差が一因であると考えられた．

試験 3 低温伸長性の異なる品種間の交雑後代における伸長性

これまでの試験から，ハウレンソウの低温伸長性には品種間差が大きく，伸長性には日長の影響も大きいことが明らかとなった．伸長性と抽だい性の早晚について遺伝的關係を検討し，低温伸長性が高く，かつ晩抽性である系統の育成を試みる．

材料および方法

1. 材料，交配および栽培

秋播き用の品種で，低温伸長性が高く，かつ抽だいが早く葉色が淡い‘若草’と，低温伸長性が低く，かつ抽だいが遅く葉色が濃い‘ウィリアム’および‘バイキング’を親として交配を行い，交雑 F₁ 集団を作成した．親とする品種の性比を調査すると，‘若草’は，雄株と雌株がほぼ 1 : 1 で出現した．‘ウィリアム’では，間性株が 41 株，雌株が 1 株であった．間性の内訳は，雌花が多い株が 28

株，雄花が多い株が 1 株，雌花と雄花が同等の株が 12 株であった。雌株と見られた 1 株についても，おそらく環境によっては雄花をつける間性株と推測された。‘バイキング’では，間性株が 14 株，雌株が 9 株，雄株が 6 株であった。間性の内訳は，雌花が多い株が 3 株，雄花が多い株が 7 株，雌花と雄花が同等の株が 4 株であった。自殖をさけるために，種子親には雄株を除去した‘若草’を用い，花粉親に‘ウィリアム’と‘バイキング’を用いた。採種は‘若草’のみから行った。交配は種子親と花粉親を隔離温室の同じ部屋に搬入し，風媒によって行った。交配によって得られた種子は，2010 年 11 月 2 日から催芽し，発芽した種子を順次，無加温ハウスに播種した。供試数は‘若草’×‘ウィリアム’の交雑 F₁ 集団（以下，WaWi 集団とする）を 800 株，‘若草’×‘バイキング’の交雑 F₁ 集団（以下，WaVi 集団とする）を 300 個体とした。また，対照として親品種の‘若草’，‘ウィリアム’，‘バイキング’をそれぞれ 40 株（1 区 20 株 2 反復）ずつ栽培した。交雑 F₁ 集団および親品種について，全長，SPAD 値，抽だい性の調査を行った。

2. 全長の測定

2011 年 2 月 24, 25 日に全個体について最大葉の全長を測定した。

3. SPAD 値の測定

2011 年 3 月 4～8 日に全個体について，最大葉の中央部を 3 回測定し平均値を算出した。

4. 抽だい性の調査

栽培期間中，随時，抽だい日の調査を行った．目視により，茎が確認できた時を抽だい日とした．

結果および考察

交雑 F₁ 集団および親品種の全長，SPAD 値を図 3-5 および図 3-6 に示す．全長は，‘若草’で平均 25.1 cm（最低 17.0，最高 32.9），‘ウィリアム’で平均 11.8 cm（最低 9.5，最高 14.1）‘バイキング’で平均 11.6 cm（最低 7.2，最高 14.2）であった（図 3-5）．交雑集団では WaWi 集団で平均 19.9 cm（最低 5.8，最高 31.0），WaVi 集団で平均 19.9 cm（最低 5.2，最高 39.7）となり，ほぼ両親の分布幅の中におさまる分離が見られた．SPAD 値は，‘若草’で平均 51.8，‘ウィリアム’で 69.4，‘バイキング’で 62.1 であった（図 3-6）．交雑集団では WaWi 集団で平均 58.7（最低 32.3，最高 75.5），WaVi 集団で平均 52.2（最低 20.5，最高 75.1）であった．抽だいは‘若草’が最も早く，2月25日から抽だいが始まり，3月29日には供試した 36 個体すべてが抽だいたした．‘ウィリアム’は 4月30日の試験終了までに抽だいたする個体はなかった．‘バイキング’は 36 株中で 4月11日に 1 株，4月21日に 6 株が抽だいたしたが，それ以外の個体は試験終了までに抽だいたは見られなかった．WaWi 集団では，3月2日から抽だいが始まり，4月21日までに全個体が抽だいた

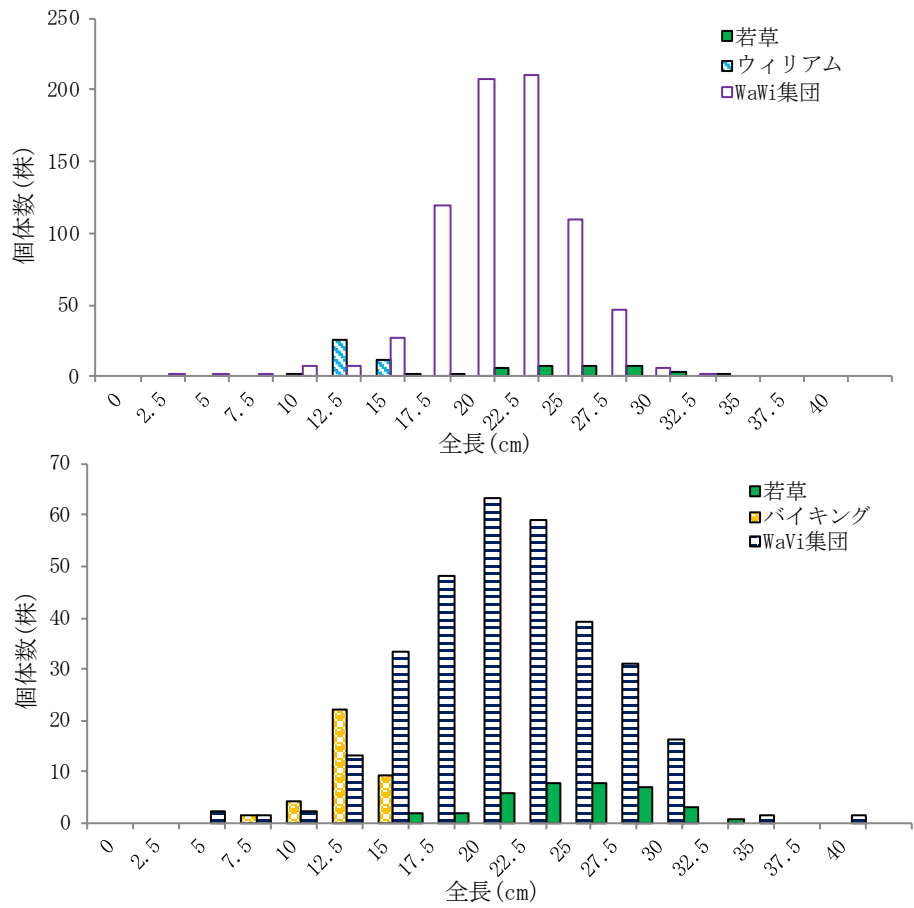


図3-5 交雑F₁集団の全長の分布

(上) WaWi集団は若草×ウィリアムの交雑F₁集団

(下) WaVi集団は若草×バイキングの交雑F₁集団

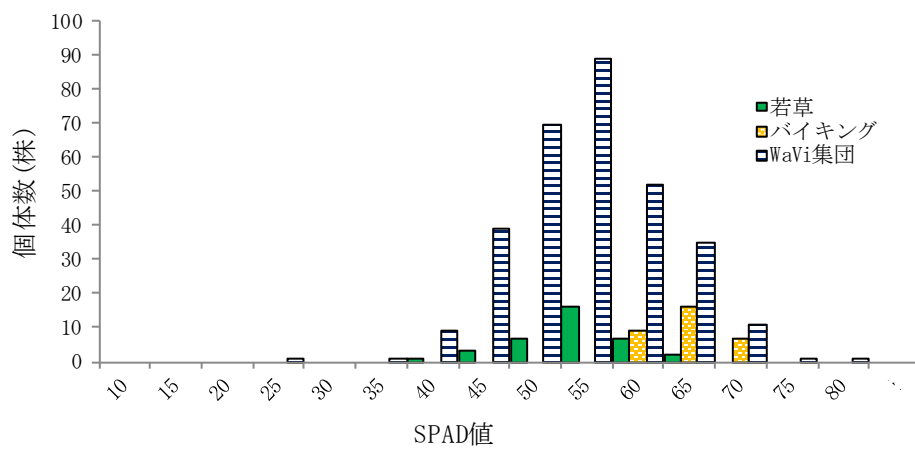
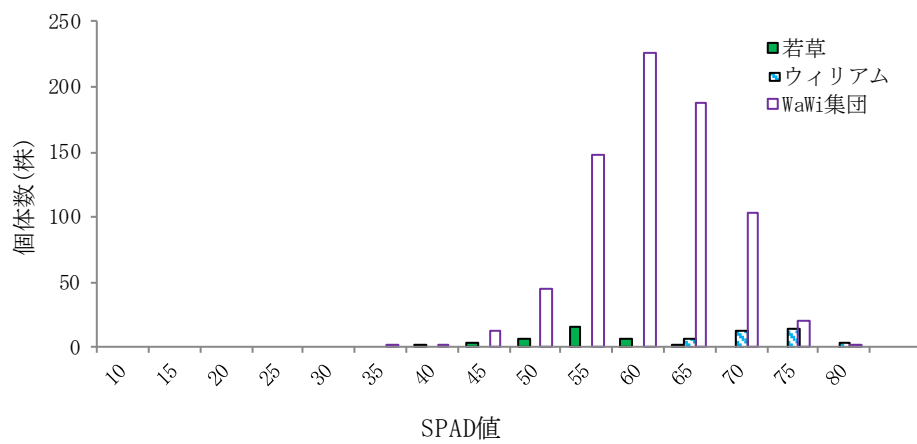


図3-6 交雑F₁集団のSPAD値の分布

(上)WaWi集団は若草×ウィリアムの交雑F₁集団

(下)WaVi集団は若草×バイキングの交雑F₁集団

した。WaVi 集団では，2月25日から抽だいが始まり，4月21日までに2個体を除いて抽だいたした。

全長と抽だいの関係を見ると，WaWi 集団と WaVi 集団のいずれにおいても，弱い負の相関がみられ，全長が長く，生育が早い個体ほど早く抽だいたする傾向があった（図 3-7）。しかし，個体ごとに見ると，抽だいが遅く，かつ生育が早い個体が含まれていた。WaWi 集団で4月21日まで抽だいたしなかった個体の全長は平均 18.6cm（調査日 2月24, 25日）であり，最大の個体は全長 29.2cmであった。WaVi 集団においても，4月21日まで抽だいたしなかった個体の全長は平均 17.0cm（調査日 2月24, 25日）であり，最大の個体は 24.2cmであった。なお，試験終了までに抽だいたしなかった WaVi 集団の2個体のうち1個体も，全長 24.2cmと良好な生育であった（もう1個体は欠測値）。SPAD 値と抽だいの関係を見ると，WaWi 集団と WaVi 集団のいずれにおいても，弱い正の相関がみられ，SPAD 値が高いほど抽だいた遅い傾向があった（図 3-8）。全長と SPAD 値の相関を見ると，WaWi 集団では $r = 0.26$ ，WaVi 集団では $r = 0.30$ であった。これらのことから，低温伸長性は高いが抽だいた早く葉色が薄い品種と，低温伸長性は低いが抽だいた遅く葉色が濃い品種との交雑により，低温伸長性が高く抽だいた遅く葉色が濃いハウレンソウが得られる可能性があることが示唆された。本試験からも，これらの条件に合致した個体を得られた。しかし，これらの個体は

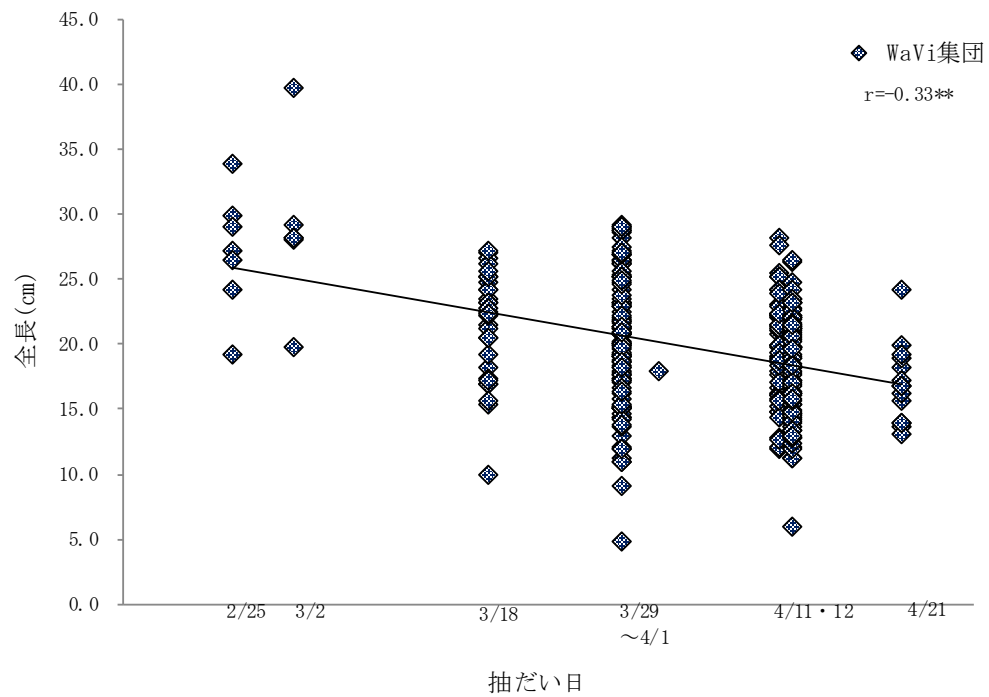
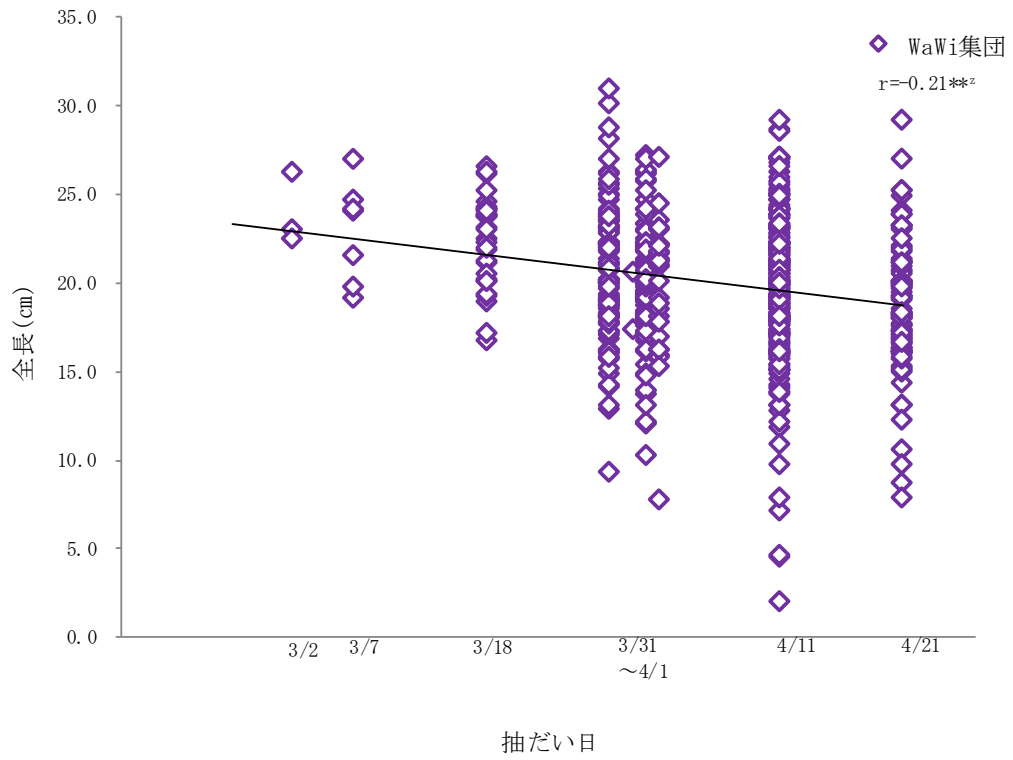


図3-7 交雑F₁集団の全長と抽だい日の関係

(上)WaWi集団は若草×ウィリアムの交雑F₁集団

(下)WaVi集団は若草×バイキングの交雑F₁集団

^z スピアマンの順位相関行列の検定により**で1%水準で有意

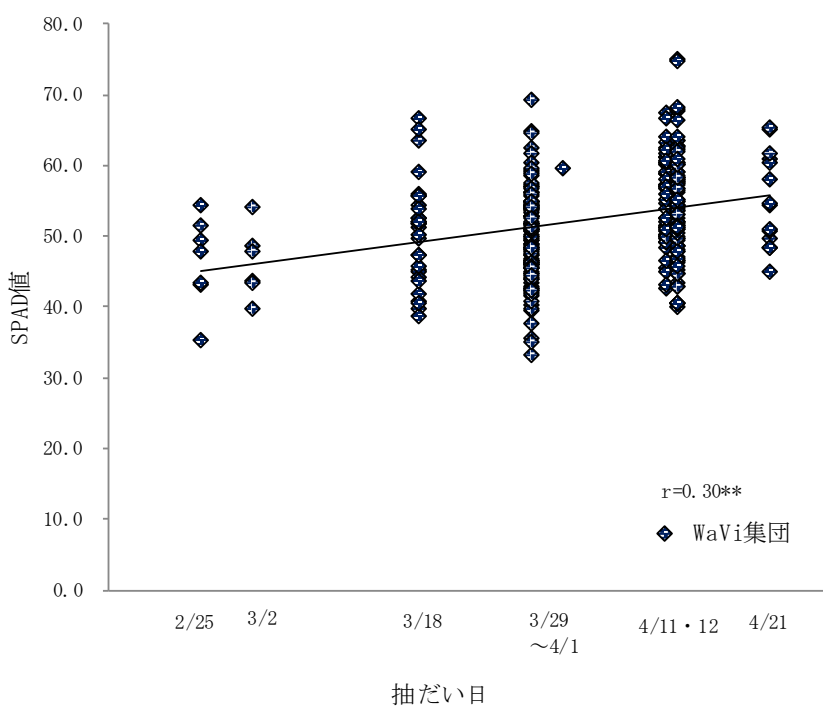
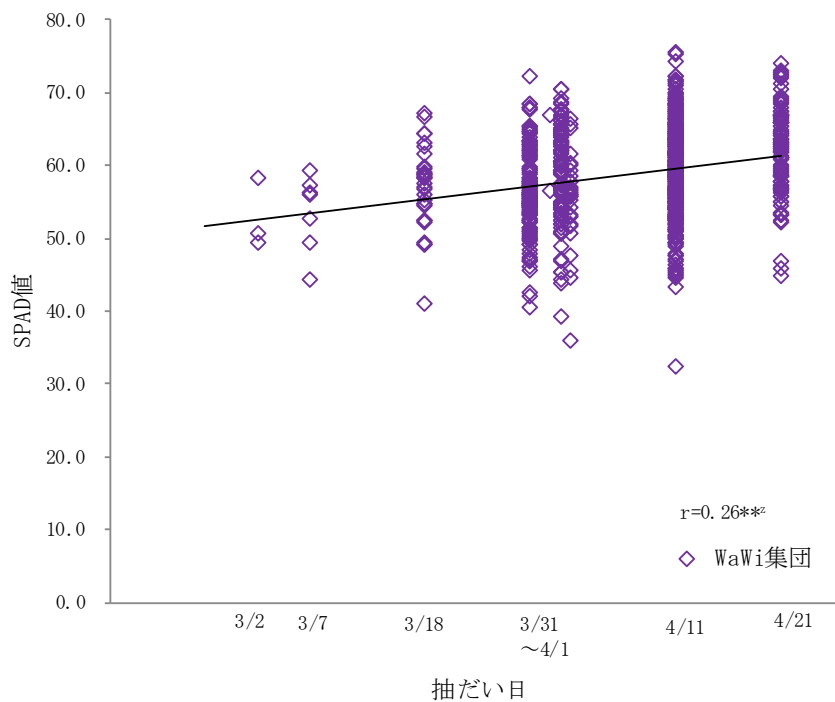


図3-8 交雑F₁集団のSPAD値と抽だい日の関係

(上) WaWi集団は若草×ウィリアムの交雑F₁集団を示す

(下) WaVi集団は若草×バイキングの交雑F₁集団を示す

^z スピアマンの順位相関行列の検定により**で1%水準で有意

抽だいが遅い個体を選抜可能かどうかの検討が必要であると考えられる。安定した生産には、抽だいが遅いと同時に、伸長性が高いことが求められるため、両者のバランスがとれた個体を選抜する必要がある。近年、ハウレンソウの抽だいと花芽形成に関与が示唆される遺伝子が報告されており（安部ら，2015），晩抽性に関するマーカーの作成など，今後はゲノム情報の活用によって，伸長性と晩抽性を兼ね備える系統の育成が効率的に可能となると考えられる。

総合考察

ホウレンソウは日本の農業上、重要な野菜であり、その育種目標は主に生産性に特化して行われてきた。すなわち、病害抵抗性と高収量性が主軸となっている。その他の形質、食味や内容成分などについては主要な育種目標とはなっていない。営利栽培される品種のほぼすべてが民間種苗会社によって育成されており、生産性に直結しない形質や育種に時間がかかるような形質については手が出しにくい現状がある。本研究では、このような形質のうち3点に注目し研究を行った。

まず、第1章ではホウレンソウに多量に含まれている好ましくない成分であるシュウ酸および硝酸について、両含量の同時検定の方法の開発と育種的低減化について検討を行った。両成分の低減化の試みは、公設試験場および大学を中心に多くの試験が行われている。しかし、これまで安定した低含量を示す有望な育種素材は見出されてきていない。その原因として、シュウ酸は葉身に、硝酸は葉柄により多量に含まれており植物体の異なる部位に偏在し葉身と葉柄の比率が両含量に影響を及ぼすこと、植物体としては生育途上のものを食用とするため、環境の影響を受けやすく、遺伝的変異が明確に抽出できないことが考えられた。本研究では、遺伝的変異をとらえ、育種選抜に利用することを目的として、リーフディスク法による両含量の同時測定を検討を行った。その結果、品種を問わず第5葉付近の葉身を用いることで、品種間の両含量を比較することが可能であった。温度が両含量に与える影響を調査したところ、リーフディスクにおいても植物体全体の傾向と同じように、高温では両含量とも高く、低温では低くなる傾向があり、温度と品種には交互作用が確認された。育種を行う上

では、栽培時期を決めて選抜を行う必要があることが示唆されたことから、気温が高く両含量が増加する夏秋期の作型において、低減化のための両含量の素材検索と選抜を行った。環境の影響を受けやすいことから、栽植密度・施肥量・収穫日時を統一し、環境変動が小さくなるよう試験を設定した。素材検索では、日本国内および海外の遺伝資源からは、既存の品種と比較して明確に安定した低含量の素材は得られなかった。しかし、複数回の調査から、低含量を示しやすい傾向がある品種がいくつかあることがわかった。環境によっては両成分が蓄積しにくい、あるいは代謝されやすいという遺伝的変異が含まれている可能性があると考え、これらの品種から低含量の個体選抜と交配を試みた。その結果、シュウ酸含量では‘マジック’、‘晩抽パルク’、‘禹城’の3品種において2~4回の選抜を行ったが、選抜効果はほとんど見られなかった。このため環境の影響を上回る遺伝的変異は、これらの品種には含まれていなかったか、もしくはシュウ酸含量に関する領域がすでに固定されていたと推察された。硝酸含量については、‘シャイアン’から選抜を行い、異なる環境下においても元品種よりも安定して硝酸含量が1~2割程度低い系統‘盛岡1号’を育成した。この系統では、硝酸含量とは逆にシュウ酸含量では増加傾向が見られた。植物体内で、シュウ酸は硝酸の還元に伴って生成され蓄積される。低硝酸系統の‘盛岡1号’では、硝酸の還元が活発に行われる一方で、シュウ酸の生成量も増加し、代謝速度には変化がないために蓄積量が増したのではないかと推察された。

第2章においては、加熱後の葉色の保持を目的とした研究を行った。ハウレンソウは家庭調理による消費のみでなく、外食産業や中食産業においても不可欠な食材である。加熱後の照明下に置くことで、緑色に変色し劣化することが問題となっている。

緑色の変化は葉中のクロロフィルがフェオフィチンに変化することに起因する。品種選択によってこのような劣化を回避することの可能性について検討を行った。葉色の濃さの官能評価値と色彩計による測色値との関係を見たところ、生鮮葉と加熱・光照射後の葉のどちらにおいても、明度と彩度が低く、色相角度が大きい品種を葉色が濃いと評価する傾向があった。生鮮葉で葉色が濃いと評価された品種は、加熱・光照射後も濃いと評価される傾向があり、生鮮葉で濃い品種を使用することで、加熱・光照射後の劣化が回避できることが明らかとなった。葉色が濃い品種とごく淡い品種では、ごく淡い品種において測色値の変化が大きかった。クロロフィルからフェオフィチンへの変化率の違いについても検討したが、品種による明瞭な違いは明確ではなかった。ある程度の葉色の濃さを持つ品種においては、照明下では一様に葉色が劣化するが、ごく淡い品種を用いた場合はより劣化の程度が大きくなる可能性が考えられた。したがって、劣化の回避には葉色が濃い品種を利用するほかに、寒締め栽培等によって葉色を濃くすることも有効であった。寒締め栽培では達観によって葉色が濃くなるとともに、Brix 糖度やビタミンC 含量が増加した。増加程度には品種間差異がみられ、寒締め前とほとんど含量の変化がない品種もあることから、内容成分の増加を目的として寒締め栽培を行う場合は、品種選択に注意が必要である。寒締め栽培による葉色の変化は、測色値では彩度の低下として示された。クロロフィル濃度は寒締めの前後で変化はなく、寒締めによる葉色の濃さは葉の厚みが増すことで単位面積当たりのクロロフィル含量が増加するためであると考えられた。葉色の濃さと、葉の伸長性、Brix 糖度、ビタミンC 含量には有意な相関関係は見られず、葉色が濃く、生育が早く、かつ高品質なハウレンソウが得られることが明らかとなった。

次に、第 3 章において、秋播き以降の栽培で重要な形質である低温伸長性について研究を行った。秋冬期のハウレンソウ栽培では、低温であるとともに、冬至をはさんで日長が大きく変化する時期にも当たっている。播種のわずかな遅れにより、十分な生育ができないまま、気温が上昇し日長が長くなると、早期抽だいにより出荷できない危険性がある。第 1 章および第 2 章において多様な品種を用いて試験をおこなったところ、抽だいの早晩と低温伸長性の高低は密接な関係があると考えられた。たとえば、第 1 章で生育が早い‘若草’は秋冬播き用の早生性品種であり、生育が遅い‘アクティブ’および‘シャイアン’は、夏播き用の晩抽性品種である。これまでの報告から、抽だい性と葉柄の伸長に関わるホルモンは別種であると示唆されているが、品種成立の過程において、秋冬期の栽培では晩抽性が不可欠ではないことから、高い伸長性と抽だいしやすい形質が同時に選抜されてきた可能性がある。日長が長いほど生育は早く、伸長性に日長が与える影響には品種間差があり、主に葉柄の伸長差が品種間差に寄与していることが明らかとなった。気温が低い場合には、日長と品種には交互作用が見られたが、気温が高い場合では交互作用は見られず、低温期の伸長性の早晩には、日長の影響が大きいことが推察された。伸長性の品種間差に、個葉の光合成能力が与える影響をみたところ、伸長性の高い品種では、伸長性の劣る品種よりも、低温下における光合成速度が高く維持されていることが明らかとなった。光合成能力については調査個体数が少ないため、さらなる再検討が必要であるが、冬季の伸長性の高低には、品種によって日長への反応が異なること、低温下における光合成能力が異なることが影響していると考えられた。低温伸長性が高く、かつ晩抽性を有する系統育成の可能性について探るため、伸長性が高く抽だいしやすい品種と、伸長性が低

く抽だいしにくい品種との交雑 F₁集団を作成し、伸長性と抽だい性の調査を行った。交雑 F₁集団の伸長性および抽だい性の分布は、両親のほぼ中間を示した。個体ごとに見ると、伸長性が高く、かつ抽だいが遅い個体が含まれており、育種的な改良の可能性が得られた。用いた両親は葉色も大きく異なっており、交雑 F₁集団においても SPAD 値に分離が見られ、伸長性、抽だい性と SPAD 値との相関は低かった。交雑 F₁集団から伸長性、晩抽性、葉色で選抜を行った個体間で交雑を行うことで、さらに望ましい形質を有した個体が得られると考えられる。

以上、第 1 章では、シュウ酸含量および硝酸含量の低減化について、第 2 章では加熱・調理後の葉色の保持について、第 3 章では低温伸長性について多様な品種を用いて研究を行った。いずれの課題においても、育種的な改良の可能性が得られた。近年、ここ数年で急速にマイナークロップについてもゲノム解析がすすみ、ハウレンソウについてもドラフトゲノム情報が公開された (Chexi, 2017)。本研究で得られた知見と、新たなゲノム情報を活用することで、より効率的に有望な育種素材の探索と品種育成がすすむことが期待される。

摘要

ホウレンソウは日本において周年供給がおこなわれている主要な野菜である。現在の民間企業主導の育種においては、病害抵抗性、高収量性など生産性の確保が重要視されており、成分などについては、主要な育種目標としてはあげられてこなかった。本研究では、これまでホウレンソウの育種目標として焦点があてられていない形質に着目し、シュウ酸および硝酸について、育種的に低減の可能性を探るとともに、調理後の葉色の保持について品種間差異と退色のメカニズムの解析を試みた。また、研究の過程において顕著に見られた低温期の品種間の伸長性の差に焦点をあて、低温期の伸長性について遺伝的・生理的な面から解析した。

第1章のシュウ酸含量および硝酸含量の低減化に関しては、リーフディスクを用い、品種の比較・選抜を行い、全葉を用いなくとも第4~5葉のリーフディスクを用いることで、株全体の含量の比較ができることを明らかにした。また、両含量が高温時に増加し、低温下では減少する傾向がみられ、品種と温度には交互作用があることを明らかにした。両含量が高くなる夏の高温時の栽培を想定した低含量品種の育成のため、90系統のスクリーニングと選抜を行った。シュウ酸について有望な素材は得られなかったが、既存品種からの選抜により低硝酸含量の系統を育成した。

第2章の調理後の葉色の保持については、48品種を用いて年次と栽培時期を変えて葉色の調査を行い、葉色の品種間差は年次・栽培時期に関わらず安定していることを明らかにした。加熱後の時間経過に伴う色の変化をみると、明度が高いまま、彩度が低下し色相角度が小さく黄色みが強くなった時に、葉色が劣化したと認識された。生鮮葉、加熱調理後のどちらにおいても、葉色が濃いと認識される品種では、明度および彩度が低

く、色相角度が大きかった。生鮮葉で葉色が濃いと認識された品種と、加熱調理後に濃いと認識される品種は同じ傾向があり、調理後に良好な葉色を得るためには、濃緑色の品種を使用することが有効であった。また、寒締め栽培によって葉色を濃くしたハウレンソウでは、加熱調理後の葉色の保持も良好で、かつ Brix 糖度およびビタミン C 含量が増加しており品質面で優れていた。葉色の濃さと Brix 糖度およびビタミン C 含量には関連はなく、葉色が濃く両含量が高いハウレンソウを得ることができた。寒締め栽培による葉色の濃さは、クロロフィル濃度とは関係がなく、葉の厚みの増加による単位面積あたりのクロロフィル量が増加したためと考えられた。

第 3 章の低温期の伸長性については、温度とともに日長の影響も大きく、品種によって反応が異なることが明らかとなった。伸長性の品種間差のひとつの要因として、光合成能力との関係があり、伸長性の低い品種では 10℃程度の低温で光合成が著しく減少した。伸長性と抽だいの早晩は既存品種では密接な関係にあり、伸長性の高い品種は抽だいても早く葉色も淡かった。伸長性と抽だい性の形質の遺伝的分離を試み、伸長性・早晩性・葉色の異なる品種間の交雑集団から、伸長性が高く、抽だいが遅く、葉色が濃い個体を得ることができた。このことから、これらの形質は連鎖しておらず分離可能な形質であることが推察された。今後、さらに選抜を進めることで、低温の秋冬に伸長性が高く、かつ長日に向かう冬から春の時期においても抽だいしにくい新規のハウレンソウが得られる可能性があった。

謝辞

本研究の遂行にあたり，岩手大学農学部植物生命科学科高畑義人教授，畠山勝徳准教授，および寒冷地フィールドサイエンス教育研究センター由比進教授には貴重なご助言ならびに長年に渡る多大なるご指導をいただきました。弘前大学農学生命科学部食料資源学科石川隆二教授，山形大学農学部食料生命環境学科笹沼恒男准教授には本学位論文の審査を引き受けていただきました。弘前大学農学生命科学部原田竹雄教授，大阪府立大学生命環境科学研究科教授横井修司（元岩手大学農学部植物生命科学科准教授）には在学中に副指導を引き受けていただきました。また，農研機構野菜花き研究部門川頭洋一上級研究員および東北農業研究センターの本城正憲主任研究員には，シュウ酸および硝酸の分析およびデータ解析にご指導をいただきました。農研機構野菜花き研究部門坂田好輝部門長ならびに野口裕司ユニット長には研究をまとめる機会を与えていただきました。系統適応性および特性検定試験においては青森県産業技術センターおよび神奈川県農業技術センターに，葉色の解析においては日清製粉グループ基礎研究所にご尽力いただきました。ハウレンソウの栽培と調査において，農研機構東北農業研究センター木村力也技師を始めとする研究支援センター職員および契約職員の方々，並びに沖節子氏，櫻井由香里氏，岩淵恵子氏には多大なるご協力をいただきました。ここに深謝の意を表します。

引用文献

- 安部英里香・藤野介延・山口 夕・幸田泰則. 2015. ホウレンソウの花芽形成・抽だいに関する研究. 北海道大学農学院学位論文.
<<http://hdl.handle.net/2115/60924>>.
- Ainong S., B. Mou and J. C. Correll. 2016. Association analysis for oxalate concentration in spinach. *Euphytica* 212:17-28.
- 青木和彦. 2004. 寒締め栽培. 野菜園芸大百科第2版第15巻ホウレンソウ・シュンギク・セルリー. p. 159-164. 農文協. 東京.
- 青木和彦・小沢 聖・吉田光二. 1997. ホウレンソウの低温伸長性と品質関連成分の変動との関係. *東北農業研究*. 50: 191-192.
- Bakr A.A. and R. A. Gawish. 1997. Trials to reduce nitrate and oxalate content in some leafy vegetables. 2. Interactive effects of the manipulating of the soil nutrient supply, different blanching media and preservation methods followed by cooking process. *J. Sci. Food Agric.* 73: 169-178.

- Beiquan M. 2008. Evaluation of oxalate concentration in the U.S. spinach germplasm collection. Hort. Sci. 43: 1690-1693.
- Chenxi Xu, C. Jiao, Y. Zheng, H. Sun, W. Liu, X. Cai, X. Wang, S. Liu, Y. Xu, B. Mou, S. Dai, Z. Fei and Q. Wang. 2015. De novo and comparative transcriptome analysis of cultivated and wild spinach. Sci. Rep. 5: 17706. doi:10.1038/srep17706
- Chenxi Xu, C. Jiao, H. Sun, X. Cai, X. Wang, C. Ge, Y. Zheng, W. Liu, X. Sun, Y. Xu, J. Deng, Z. Zang, S. Huang, S. Dai, B. Mou, Q. Wang, Z. Fei and Q. Wang. 2017. Draft genome of spinach and transcriptome diversity of 120 Spinacia accessions. Nature Comm. 8: 15275. doi:10.1038/ncomms15275
- Elia, A., P. Santamaria, and F. Serio. 1998. Nitrogen nutrition, yield and quality of spinach. J. Sci. Food Agr. 76: 341-346.
- FAOSTAT. 2014. <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>>
- Fincke, M. L., and H. C. Sherman. 1935. The availability of calcium from some typical foods. J. Biol. Chem. 110: 421-428.

藤田 孝. 2000. 退色を防止した緑色野菜の製造法. 特許公開
2000-270765.

藤原孝之・坂倉 元・吉川重彦・安田典夫. 1999. 有機質肥料お
よび堆肥の連用がホウレンソウの品質に及ぼす影響. 日食工学
誌. 46: 815-820.

藤原隆広・熊倉裕史・大田智美・吉田祐子・亀野 貞. 2005. 市
販ホウレンソウの L-アスコルビン酸および硝酸塩含量の周年
変動. 園学研. 4: 347-352.

Gangolli, S. D., P. A. Van den Brandt, V. J. Feron, C
Janzowsky, J. H. Koeman, G. J. A. Speijers, B.
Spiegelhalder, R. Walker and J. S. Wishnok. 1994.
Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. Eur. J.
Pharmacol. 1: 1-38.

芳賀 恣. 1938. ホウレンソウに於ける性比. 植及勤. 6: 1573-
1574.

原 知子. 2014. ホウレンソウの色に及ぼすゆで水への添加物 -
食塩と銅の影響について-. 神戸山手短期大学紀要. 57: 37-
44.

平田祐子・兼子 明・水上宏二・森山友幸. 2008. 筑後南部地域
における冬どり縮み系ホウレンソウの品種別の収穫時期と
Brix およびビタミン C. 福岡農総試研報. 27: 105-108.

- 人見英里・玉置美子・友枝幹夫．1992．ホウレンソウのシュウ酸代謝に関する研究．園学雑．61：431-435．
- 堀江秀樹・伊藤秀和．2006．ホウレンソウのえぐ味はシュウ酸に由来するか．調理誌．39：357-361．
- 石谷孝佑・木村 進．1977．クロロフィルおよびクロロフィル誘導体の光分解について．日食工誌．24：448-452．
- 和泉眞喜子．1998．加熱条件によるほうれんそうのシュウ酸含量と食味との関連．尚綱女学院短大研究報告．45：185-190．
- 和泉眞喜子・高屋むつ子・長澤孝志．2005．ゆで水量の違いがホウレンソウの食味やシュウ酸ならびにカリウム含量に及ぼす影響．調理誌．38：343-349．
- 和泉眞喜子・高屋むつ子・堀江秀樹・木屋博之．2008．秋期ホウレンソウの品種，栽培条件，生育期間の違いによる有機酸や糖含量等の変動および茹で調理による変化，食味との関連．調科誌．41：126-133．
- 香川 彰．1956．晩抽型ホウレン草の開花促進に関する研究（第1報）．園学雑．25：33-40．
- 香川 彰．1990．ホウレンソウの低シュウ酸含量品種育成に関する研究（I）．岐阜女子大学紀要．16：13-19．
- 香川 彰．1991．ホウレンソウとシュウ酸-食材としての品質向上のための低シュウ酸化を目指して-．岐阜女子大学植物栄養学

- 会誌. 5: 1-15.
- 香川 彰. 1997. 高品質ホウレンソウの栽培生理. 1-16. 株式会社いしずえ. 千葉.
- 香川 彰. 2004. II 栄養成長の生理. 野菜園芸大百科第2版. p. 22-27. 農文協. 東京.
- 香川 彰・太田和子. 1997. ホウレンソウの低シュウ酸含量品種育成に関する研究(V). 岐阜女子大学紀要. 26: 59-64.
- 片岡 園・由比 進・本城正憲. 2012. 冬季伸長性の異なるホウレンソウ品種間の交雑当代の抽だい性と伸長性. 園学研. 11 (別2): 319.
- 加藤忠司・青木和彦・山西弘恭. 1995. 冬期ハウス栽培のホウレンソウのビタミンC, β -カロテン, トコフェロールおよびシュウ酸含有量に対する外気低温の影響. 土肥誌. 66: 563-565.
- 加藤忠司・小沢 聖・青木和彦. 1996. ホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.)における水分含有率と品質関連成分の関係. 土肥誌. 67: 186-189.
- 亀野 貞. 1990. ホウレンソウの栽培条件および品種と品種関連成分の変動. 中国農研報. 6: 157-178.
- Kaminishi A. and N. Kita. 2006. Seasonal change of nitrate and oxalate concentration in relation to the growth rate of spinach cultivars. Hort. Sci. 41: 1589-1595.

川頭洋一・由比 進・石井孝典． 2000． 野菜・茶業試験場（盛岡）
研究年報． 29-30．

川頭洋一・沖村 誠・由比 進． 2001． 野菜・茶業試験場（盛岡）
研究年報． 30-32．

川頭洋一・片岡 園・由比 進・矢野孝喜． 2002． 東北農研野菜
花き研究． 16： 14-18．

Kawazu Y., M. Okimura, T. Ishii and S. Yui. 2003. Varietal
and seasonal differences in oxalate content of spinach.
Scientia Horticulturae. 97: 203-210.

清田マキ・関根康子・藤代岳雄・岡 充・小泉典子． 1996． 土耕
および水耕におけるホウレンソウの成分および生食の食味の差
違． 栄養日本． 49： 107-112．

木下隆雄・亀野 貞・野口正樹． 1988． ホウレンソウの高品質化
のための栽培条件． 農業および園芸． 63： 51-55．

木幡勝則・城下昌弘・高島和彦・氏原ともみ・堀江秀樹． 2004．
茶葉におけるクロロフィルのフェオフィチンへの変化率と茶葉
pHとの相関． 食科工会誌． 51： 69-72．

越野正義． 1976． 硝酸塩の植物体内での集積． 早瀬達郎・安藤淳
平・越野正義編． 肥料と環境保全． p. 227-252． ソフトサイエ
ンス社． 東京．

窪田昌春． 2016． ホウレンソウベと病抵抗性品種に近年発生した

- 同病菌レース．日本菌学会第60回大会 ID: P084.
- 熊澤喜久雄．1998．土と水と食品の中の硝酸 (NO_3) をめぐる諸問題． < http://jssspn.jp/file/pdf5_sympo1998.pdf >
- 倉田元子・鹿毛千津子・塚本久美子・石井千恵美・表美守．
1992．ホウレンソウ, コマツナ, ドクダミ, アロエのクロロフィルの熱安定性．調理科学．25: 138-143.
- Libert, B. and V. R. Franceschi. 1987. Oxalate in crop.
Plants. J. Agr. Food Chem. 35: 926-938.
- 丸山悦子・安田明美・梶田武俊・山本喜男．1976．野菜中クロロフィルの熱分解に関する研究．調理科学．9: 111-116.
- 松本真悟・阿江教治・山縣真人．1999．有機肥料の施用がホウレンソウの生育および硝酸, シュウ酸, アスコルビン酸含量に及ぼす影響．土肥誌．70: 31-38.
- 目黒考司・吉田企世子・山田次良・下野勝沼．1991．夏どりホウレンソウの内部品質指標．土肥誌．62: 465-438.
- Metzger, J. D. and J. A. D. Zeevaart. 1982. Photoperiodic control of gibberellic metabolism in spinach. Plant Physiol. 69: 287-291.
- Mou, B. 2008. Evaluation of oxalate concentration in the US spinach germplasm collection. HortSci. 43: 1690-1693.

- Murakami K., M. Edamoto, N. Hata, Y. Itami and M. Masuda.
2009. Low-oxalate spinach mutant induced by chemical mutagenesis. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 78: 180-184.
- 永田雅靖. 1996. クロロフィル, II クロロフィルからフェオフィチンへの変化率測定法. 日本食品科学工学会編. 新・食品分析法. p. 650-652. 光琳. 東京.
- 中本 洋・黒島 学・塩澤耕二. 1998. ホウレンソウのシュウ酸、硝酸、ビタミンCに及ぼす遮光, 気温, かん水, 堆肥施用の影響. 北海道立農試集報. 75: 25-30.
- 中村英司. 1954. 菠薐の春化处理(予報). 農業および園芸. 29: 677-678.
- 中西洋子・丸山悦子・梶田武俊・長谷川千鶴. 1982. サトイモの不味成分について. 家政学研究. 29: 75-77.
- NAS. 1972. Committee on nitrate accumulation: accumulation of nitrate.
- 西田忠志・田中静幸・高宮泰宏. 2008. 加工用ほうれんそうの露地栽培技術. 平成19年度北海道農業研究成果情報.
<<http://www.naro.affrc.go.jp/org/harc/seika/h19/014.html>>
- 野原茂六. 1923. 菠薐草の遺伝研究. 遺雑. 2: 45-54.
- 農林水産省. 2013. 加工・業務用野菜をめぐる現状.

<http://www.maff.go.jp/j/seisan/kakou/yasai_kazitu/pdf/kg-yasai.pdf>

農林水産省． 2015． 平成 27 年産野菜生産出荷統計．

<<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001164543>>

荻野聡美・辻村 卓・横山久美代・徳久幸子． 2001． 日本人健常女性におけるシュウ酸の吸収率および尿中内因性シュウ酸量の測定． 女子栄養大学紀要． 32: 19-26.

岡田益己・井上めぐる・青木和彦・村井麻里． 2006． 寒締めホウレンソウの糖度上昇機構とその定量化． 日本農業気象学会大会講演要旨． 43.

岡田益己・井上めぐる・濱崎孝弘・青木和彦・荒川市郎． 2005． 寒締め野菜の環境調整シナリオ． 農業技術． 60: 23-27.

岡崎圭毅・建部雅子・唐澤敏彦． 2006． ホウレンソウにおける汁液硝酸イオン濃度の推移および糖・シュウ酸含有率に対する養液土耕栽培の効果． 土肥誌． 77: 25-32.

沖村 誠・由比 進・石井孝典． 1999． 野菜・茶業試験場(盛岡)研究年報． 22-27.

奥谷巖根・杉山信男． 1992a． ホウレンソウにおける葉位別シュウ酸濃度と生育ステージとの関係． 園学雑． 61(別 1): 340-341.

奥谷巖根・杉山信男． 1992b． ホウレンソウの葉位別シュウ酸濃度

- に対する品種・窒素供給量の影響．園学雑．61(別2): 416.
- 大久保洋子．1988．調理による野菜の色素の変化(第2報)．文教大学女子短期大学部研究紀要．32: 6-11.
- 太田和子．2016．ホウレンソウの低シュウ酸含量品種育成に関する研究(VIII)．岐阜栄養大学紀要．46: 51-60.
- 太田和子・香川 彰．1992．ホウレンソウの低シュウ酸含量品種育成に関する研究(III)．岐阜女子大学紀要．25: 121-126.
- 太田和子・香川 彰．1996．ホウレンソウの低シュウ酸含量品種育成に関する研究(IV)．岐阜女子大学紀要．21: 31-35.
- 大鷲高志・加藤春男・高野岩雄・渡辺 満．2014．ホウレンソウの品種・栽培条件の違いがルテイン含量に及ぼす影響．東北農業研究．67: 121-122.
- 尾崎加奈・安田みどり・水流美智子・太田英明．2006．(-)-エピガロカテキンガレートによるクロロフィル a の光退色抑制作用．日食保蔵誌．32: 263-268.
- 尾崎加奈・安田みどり・水流美智子・尊田民喜．2004．抗酸化物質によるクロロフィルの光退色抑制効果．永原学園西九州大学・佐賀短期大学紀要．34: 41-45.
- Parlevliet, J. E. 1967. The influence of external factors on the growth and development of spinach cultivars. Meded. Landbouwhoges Wageningen. 67: 1-75.

- Porra, R. J., W. A. Thompson and P. E. Kriedemann. 1989.
Determination of accurate extinction coefficients and
simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b
extracted with four different solvents: verification of
the concentration of chlorophyll standards by atomic
absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta.* 975:
384-394.
- Rosa, J. T. 1925. Sex expression in spinach. *Hilgardia.* 1:
259-274.
- 社団法人日本種苗協会. 2009. 野菜品種名鑑. p. 188-198. 東
京.
- Solberg S. O., Y. Flemming and A. Johan. 2015. Nitrate and
oxalate in germplasm collections of spinach and other
leafy vegetables. *Emir. J. Food Agric.* 27: 698-705.
- 代谷 沢・片岡慶子・勝元みどり. 1972. ほうれん草の調理科学
的研究. *食物学会誌.* 27: 31-41.
- 孫 尚穆・米山忠克. 1996. 野菜の硝酸: 作物体の硝酸の生理,
集積, 人の摂取. *農業および園芸.* 71: 1179-1182
- 杉山信太郎. 1989. ホウレンソウの成長におよぼす長日条件の影
響. *恵泉女学園短大研究紀要.* 22: 35-44.
- 杉山信太郎. 1990. やや短い長日条件がホウレンソウの成長に及

- ぼす影響. 農業および園芸. 65: 403-408.
- 杉山信男・広岡幹也. 1992. ホウレンソウの葉におけるシュウ酸濃度と還元態窒素濃度との関係. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 61: 569-574.
- 杉山信太郎・藤田 智. 1996. ホウレンソウ品種の耐暑性実験. 恵泉女学園大学大学研究紀要. 28: 13-19.
- Sugiyama N. and I. Okutani. 1996. Relationship between nitrate reduction and oxalate synthesis in spinach leaves. Plant Physiol. 149: 14-18.
- Sugiyama N., M. Hayashi and M. Uehara. 1999. Effect of water stress on oxalic acid concentrations in spinach leaves. J. J. Soc. Hort. Sci. 68: 1155-1157
- 杉山信男・吉岡佐知子・高溝 正. 1984. ホウレンソウにおける葉中無機成分濃度の日内変動並びに日間変動. 園学雑. 52: 434-544.
- SPS 関東地域農業研究・普及協議会. 2010. 加工用ホウレンソウ機械化体系マニュアル. (株)日本施設園芸協会. 東京.
<<http://www.jgha.com/houren-kikaikataikei.pdf>>
- 高尾保之. 1994. 東京特別区の農業における生産環境について. 東京農試研報. 26: 87-97.

- 高尾保之． 1998． ホウレンソウの生育および抽だいに及ぼす夜間照明の影響と品種の限界日長． 園学雑． 67（5）： 778-784．
- 田村 晃． 2004． 栽培期間中の気温がホウレンソウとコマツナの糖およびビタミン C 含量に及ぼす影響． 園学研． 3： 187-190．
- 田代勇樹． 2010． 業務用の露地初夏どり作型に適するホウレンソウ品種．平成 21 年研究成果情報．
<<http://www.naro.affrc.go.jp/org/tarc/seika/jyouhou/H21/yasai/H21yasai007.html>>
- 建部雅子・石原俊幸・松野宏治・藤本順子・米山忠克． 1995a． 窒素施用がホウレンソウとコマツナの生育と糖，アスコルビン酸，硝酸，シュウ酸含有率に与える影響． 土肥誌． 66： 238-246．
- 建部雅子・石原俊幸・石井かおる・米山忠克． 1995b． 培地の窒素形態および Ca:K 比がホウレンソウとコマツナの硝酸，アスコルビン酸，シュウ酸含有率に与える影響． 土肥誌． 66： 535-543．
- 刃根茂弘・内山善雄． 1989a． 栽培条件がホウレンソウの蓚酸含量に及ぼす影響（第 1 報）品種，ジベレリン処理，栽植密度，生育日数，土壤水分の影響． 山口農誌研報． 41： 32-39．
- 刃根茂弘・内山善雄． 1989b． 栽培条件がホウレンソウの蓚酸含

- 量に及ぼす影響(第2報)土壌及び施肥の影響. 山口農誌研報.
41: 40-45.
- 陶山紀江・刀祢茂弘・坂井崇人. 1996. ホウレンソウのリーフディスクによる蔭酸含量の品種比較. 山口農試研報. 47: 41-46.
- Vlitos, A. J. and Meudt, W. 1955. Interactions between vernalization and photoperiod in spinach. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 18: 159-166.
- Walker, R. 1990. Nitrates, nitrites and N-nitrosocompounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food Addit. Contam.* 7: 717-768.
- 渡辺 正・小林正美. 1988. 光合成機能分子としてのクロロフィル類-生体内の分子構成と生体外での物理化学-. 日化誌. 383-395.
- Wataru Y., K. Noguchi, Y. Handa and I. Terashima. 2006a. Effects of internal conductance on the temperature dependence of the photosynthetic rate in spinach leaves from contrasting growth temperatures. *Plant Cell Physiol.* 47: 1069-1080.
- 山田千佳子・岩崎泰史・吉田企世子. 2003. 秋期栽培における品種の異なるホウレンソウの還元糖, アスコルビン酸, シュウ酸

- および硝酸含量. 栄食誌. 56: 167-173.
- 山田千佳子, 渡邊容子, 吉田企世子. 1999. ホウレンソウのゆで調理におけるシュウ酸, 硝酸および還元糖含量の変化. 女子栄養大紀要. 30: 135-140.
- 山川邦夫. 2003. 野菜の生態と作型-起源からみた生態特性と作型分化-. p. 272. 農文協. 東京.
- 山内直樹・執行正義. 2008. 緑色植物の脱緑抑制方法. 特許公開 2008-118924.
- Yamori W., K. Noguchi and I. Terashima. 2005a. Temperature acclimation of photosynthesis in spinach leaves: analyses of photosynthetic components and temperature dependencies of photosynthetic partial reactions. Plant Cell Environ. 28: 536-547.
- Yamori W., K. Suzuki, K. Noguchi, M. Nakai and I. Terashima. 2005b. Effects of Rubisco kinetics and Rubisco activation state on the temperature dependence of the photosynthetic rate in spinach leaves from contrasting growth temperatures. Plant Cell Environ. 29: 1659-1670.
- 安田雅春・越川兼行・鈴木郁子. 2004. 水耕栽培ホウレンソウの内容成分改善に関する研究. 岐阜農技研報. 4: 5-13.

米山忠克・建部雅子． 1992． アスコルビン酸（ビタミンC）・シュウ酸・硝酸の代謝と相互関係． 農業および園芸． 67： 1055-1062．

吉田祐子・浜本 浩． 2010． 日射量と気温がホウレンソウのアスコルビン酸含量の変動に及ぼす影響． 園学研． 3： 333-338．

吉川年彦・中川勝也・小林 保・時枝茂行・永井耕介． 1988． 高品質ホウレンソウの生産・出荷に関する研究（第1報）シュウ酸含量に及ぼす品種・生育ステージの影響． 近畿中国農業研究． 75： 71-76．

Zeevaart, J. A. D. 1971. Effects of photoperiod on growth rate and endogenous gibberellins in the long day rosette plant spinach. *Plant Physiol.* 47: 821-827.