

倍加ジネンジョの作出とその特性について

鈴木 健司・小原 麻里・岩佐 博邦*

キーワード：ジネンジョ、育種、倍数性、倍加処理

I 緒 言

数少ない日本原産作物の一つであるジネンジョ (*Dioscorea japonica* THUMB.) は、古来から山野に自生して採取されてきた。その利用はサトイモと同様に大変古い歴史があると考えられている。しかし、同じヤマノイモ属で中国原産のナガイモ (*Dioscorea opposita* THUMB.) が市場流通して大衆的な野菜となっているのに対して、ジネンジョが全国各地で本格的に栽培されるようになったのは、栽培容器が開発された1970年代以降である。これまで、ジネンジョの育種については、栄養系選抜(飯田ら、1991)や交雑育種(飯田ら、2001)による品種の育成、ナガイモとの雑種に関する研究(荒木ら、1987、1989)が報告されているが、倍数性育種についてはこれまで報告がない。

一方、高等植物の半数は倍数体であるとされており、作物の進化や分化に重要な役割を果たしている。コルヒチン処理などの人為的倍加によって得られる同質四倍体の育種は、牧草や花卉類を主として実用化されている。倍数化に伴い、稔性が低下するものの、各種器官が巨大化する(松尾、1982)ことから、栄養繁殖作物への応用が期待される。

そこで、ジネンジョにおける倍数性育種の有用性を明らかにすることを目的として試験を実施した。本報告では、倍加による同質四倍体ジネンジョの作出方法と作出された倍加ジネンジョの特性について報告する。

II 材料および方法

1. コルヒチン処理方法が倍数性に及ぼす影響

1997年に畑作研究室圃場(現生産工学研究室圃場)でジネンジョの優良4系統(雄株の「No.2」、「No.4」2

系統と、雌株の「No.6」、「No.11」2系統)を混植栽培した。雌株から得られた果実を10月中旬に収穫した。果実は、70%エタノールおよび次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素1%)で表面殺菌した。果実から種子胚を実体顕微鏡下で取り出し、茎頂部がコルヒチン添加培地に接するよう置床し、3~7日培養した。この処理後、コルヒチンを含まない発芽用培地に移植した。コルヒチン添加培地は1/2 MS基本培地にMSビタミン、ショ糖(30g/l)、寒天(9g/l)、コルヒチン(0.05%)を添加し、pH5.8に調製した。発芽用培地はコルヒチン添加培地からコルヒチンを除いた組成とした。

発芽した個体については、1998年~1999年には生物工学研究室(現植物工学研究室)のガラス温室内でポット栽培し、2000年~2002年には畑作研究室および育種研究所の網室内でパイプ栽培した。

倍数性は、各系統の生育中のシュートの先端5mm程度をカミソリで細かくきざみ、DAPI(4'6-Diamidino-2-penyinidole Dihydrochloride)溶液(植物用DNA試薬キット、partec社製)で染色し、30μmメッシュで濾過後、フローサイトメーター(PAS型、partec社製)で調査した。

2. 倍加処理がジネンジョの葉およびいもの形質に及ぼす影響

倍加処理し生育した個体には、種子胚別に系統番号を付した。いもが得られた96系統について、2001年と2002年に育種研究所畑作物育種研究室網室で有支柱パイプ栽培を行った。調査株数は、2001年は1系統当たり1~5株、2002年は1系統当たり3~8株とした。パイプ栽培には、口径65cmの塩化ビニル管を半分に割り長さ150cmに切断した容器を使用した。パイプには赤土を充填し、深さ20cmの溝に10°の傾斜をつけてパイプを埋設した。種芋は50g/個に切断し、常温で約40日催芽した後、5月中旬に植え付けた。栽植間隔は株間は25cm、条間は180cmとした。植え付け後に、高さ約180cmのアーチ状に支柱を設置し、目合い18cmのキュウリネット

2004年11月1日受理

* 現 海匠農林振興センター振興普及部改良普及課野菜科

を展張してつるを誘引した。培土は、つるが1 m程度伸びた6月下旬に行った。肥料は、培土直前に1 a当たりCDU化成 (15-15-15)10kgをベッドの肩部に施用した。1 a当たりの肥料の成分量は窒素、リン酸、加里とも1.5kgである。

供試系統の各形質調査は、野菜品種特性分類調査基準「ヤマノイモ」(農林水産省園芸農産局編、1983)に基づき行った。葉の形質調査は、生育盛期に行い15節目付近の葉を供試した。いもの形質は、2月に一齐に掘り取って調査した。粘度の調査は、1系統当たり1~3株を供試し、回転式粘度計(VT-06、リオン社製)を用いた。いもの表皮を除去した後に、セラミック製のおろし器で尻部からすりおろした150gを試料とし、300mlガラスビーカーに入れて粘度を測定した。

III 結 果

1. コルヒチン処理方法が倍数性に及ぼす影響

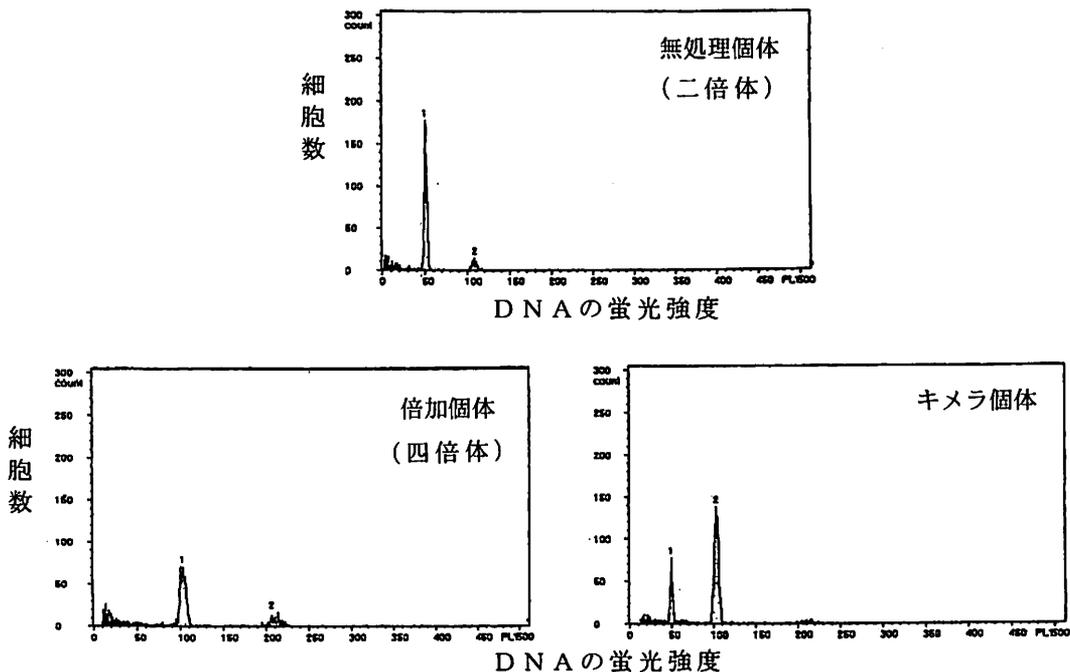
コルヒチン処理日数がジネンジョ種子胚の発芽に及ぼす影響を第1表に示した。発芽率は、処理日数3日と4日では80%以上、5日では35%、7日では12%であった。

処理日数5~7日では葉の縮れや萎縮などの奇形が多く、生育が遅かった。

フローサイトメーターを用いてDNA量を測定したところ、コルヒチン無処理と同様のピークが得られる系統と2倍の値にピークが得られる系統が存在した。無処理系統と同様なピークの系統は二倍体、2倍値の系統は四倍体、明確な二つのピークが存在する系統をキメラ個体と判断した(第1図)。

コルヒチン処理を3~7日行った後に発芽し馴化できた96系統について、2001年まで逐次倍数性を調査した。その結果、33系統が二倍体、53系統が四倍体、1系統が四倍体と八倍体のキメラ個体、5系統が同一系統内に二倍体、四倍体、二倍体と四倍体のキメラいずれかが混在することを確認した。処理日数別の四倍体への倍加効率(置床数当たりの倍加胚率)は3日が45%、4日が32%、5日が12%、7日が5%であり、3日処理が最も倍加効率が高かった(第2表)。

また、系統の倍数性については、馴化当初は、二倍体と四倍体のキメラであった系統が二倍体または四倍体のいずれかに、四倍体と八倍体のキメラであった系統が八倍体に変換することが観察された(第3表)。



第1図 フローサイトメーターによるジネンジョのコルヒチン処理個体の倍数性

上: 無処理個体 (二倍体)、下左: 倍加個体 (四倍体)

下右: キメラ個体 (二および四倍体)

第1表 コルヒチン処理日数がジネンジョ種子胚の発芽率に及ぼす影響（1998年）

処理日数	種子胚 置床数	発芽数	発芽率 (%)
無処理	56	56	100
3	57	49	86
4	57	47	83
5	58	20	35
7	58	7	12

注) 種子胚は10月中旬収穫、ステージは成熟胚

第2表 コルヒチン処理日数がジネンジョ種子胚の倍数性に及ぼす影響

処理 日数	供試 系統数 a	倍 数 性					倍加系統 の割合 (%) b/a	倍加の 効率 (%) b/置床数
		2x	4x	4x, 8x キメラ	2x, 4x等 混在	不明		
3	44	16	25	0	1	2	57	45
4	34	10	18	1	3	2	53	32
5	14	7	7	0	0	0	50	12
7	4	0	3	0	1	0	75	5

注1) 倍数性は2001年度までの調査結果による

2) 置床数は、培養に供試したコルヒチン処理種子胚の数

第3表 キメラまたは複数の倍数性が認められた系統の倍数性の年次別推移

系統名	1999年	2000年	2001年	2002年
3・2・2	2+4	4	4	—
3・11・b	—	2+4	4	—
4・5・b	2+4	4	4	4
4・7・a	2, 2+4	2	2	2
4・8・b	—	—	4+8	8
4・15・a	—	2, 4	<u>4</u>	4
4・15・b	—	2, 4	2, 4, 2+4	<u>2</u>
4・15・c	—	2, 4	2, 4	<u>2</u>
7・19・a	2, 4	2, 4	2 2+4	2 2

注1) 表中の数値は2:二倍体、4:四倍体、8:八倍体、2+4, 4+8:キメラ、

2, 4:同一の系統内に二倍体と四倍体個体が混在することを表す

2) —は未調査

3) 下線は人為的に特定の倍数性が選抜された可能性があることを示す

4) 7・19・aについては、2001年以降倍数性別に調査した

2. 倍加処理がジネンジョの葉およびいもの形質に及ぼす影響

第4表に倍加処理がジネンジョの葉形に及ぼす影響を示した。全ての系統について比較したところ、四倍体系統の葉長の平均値は二倍体系統と同程度であった。葉幅は四倍体系統では48mm～83mm、二倍体系統では29mm～81mmであり、二倍体系統で系統間のばらつきが大きかった(第2図)。葉幅の平均値は、四倍体系統が

72mmで二倍体系統の60mmより広がった。縦/横比(葉長/葉幅)は、四倍体系統が1.70で二倍体系統の2.08より値が小さかった。窪みの深さは四倍体系統が20mmで二倍体系統の18mmより深かった。肩張りは四倍体系統が34mmで二倍体系統の30mmより広がった。葉幅、縦/横比では1%水準で、窪みの深さ、肩張りは5%水準で統計的に有意差があった。

次に、同一系統内に二倍体と四倍体が混在した4系統について、倍数性別に葉形を比較したところ、系統全体の場合と同様に、四倍体個体は二倍体個体に比べて、葉幅は広く、縦/横比は小さく、窪みの深さが深く、肩張りは広がった。葉幅と縦/横比については、5%水準で有意差があり、その他の形質では有意差は検出されなかった(第5表)。

いもの形状と重量について調査した結果を第6表、第7表に示した。いもの長さでは、四倍体系統の平均値は2001年が94cm、2002年が92cmであり、いずれも二倍体系統の108cm、125cmに比べて短く、両年とも四倍体と二倍体との間に統計的に有意な差が認められた。

いも重では、2001年は四倍体系統が平均で811gとなり、二倍体系統の674gより重かったが、2002年は四倍体系統が533gで二倍体系統の596gよりやや軽く、両年で一定の傾向はみられなかった。重量別の発生割合では、四倍体系統は二倍体系統に比べて、900g以上の系統の発

生割合が高く、100g~200gの系統割合も高かった。四倍体系統は系統間の重量のバラツキが大きかった。(第3図、第4図)。いもの肥大程度については、重量/長さとして比較した。四倍体系統の肥大程度は2001年が8.6g/cm、2002年が5.7g/cmで、それぞれ二倍体系統の6.4g/cm、4.8g/cmよりも肥大していた。統計処理を行ったところ、長さは1%または5%水準、肥大程度は1%水準で有意差が認められた。

同一系統内に二倍体と四倍体が混在した3系統について、2001年に同様に比較したところ、四倍体は二倍体に比べていもの長さが短く、重さは重く、肥大程度は大きかった(第8表)。これは、全体の系統群との比較と同様の傾向であった。

いもの粘度については、2001年、2002年の順に四倍体は229P、330P、二倍体は207P、321Pであり、両年とも四倍体系統と二倍体系統との間に有意な差は認められなかった(第9表)。

第4表 倍加がジネンジョの葉形に及ぼす影響 (2001年)

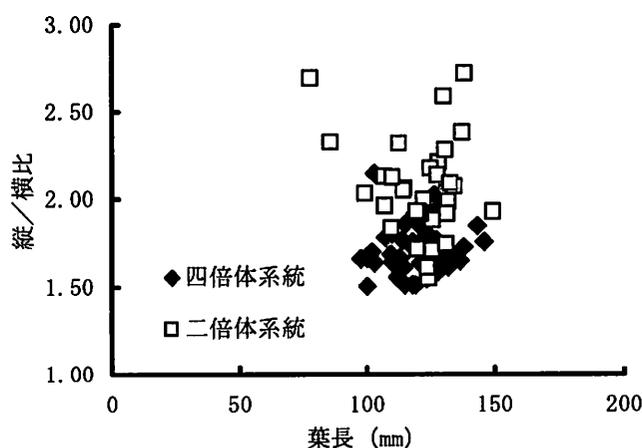
倍数性	系統数	葉長 (mm)	葉幅 (mm)	縦/横比	窪みの深さ (mm)	肩張り (mm)
四倍体	53	121	72	1.70	20	34
二倍体	32	121	60	2.08	18	30
		n. s.	**	**	*	*

注1)**はMann-Whitney検定(1%水準)により有意であることを表す

2)*はt検定(5%水準)により有意であることを表す

3)葉長、葉幅、窪みの深さ、肩張りは種苗特性分類調査基準により測定した

4)縦/横比は葉長/葉幅として算出した



第2図 ジネンジョの倍加が葉の形状に及ぼす影響 (2001年)

第5表 ジネンジョ染色体の倍加が葉形に及ぼす影響（同一系統内、2001年）

倍数性	系統数	葉長 (mm)	葉幅 (mm)	縦／横比	窪みの深さ (mm)	肩張り (mm)
四倍体	4	116	67	1.73	18	29
二倍体	4	114	53	2.15	16	26
		n. s.	*	*	n. s.	n. s.

注1) Mann-Whitney検定(5%水準)により、n. s.は有意差なし、*は有意であること表示

2) 葉長、葉幅、窪みの深さ、肩張りは種苗特性分類調査基準により測定した

3) 縦／横比は葉長／葉幅として算出した

第6表 ジネンジョ倍加がいもの形状に及ぼす影響（2001年）

倍数性	系統数	長さ (cm)	重さ (g)	肥大程度 (g/cm)
四倍体	59	94 (87)	811	8.6 (134)
二倍体	37	108 (100)	674	6.4 (100)
		*	*	**

注1) 同一の種子胚由来（同一系統）でも倍数性が異なる場合は、四倍体と二倍体に分けて扱った

2) いも重100g／株以上を対象とした

3) 肥大程度は重さ／長さとした

4) ()内は二倍体に対する相対比

5) t検定により、**は1%水準、*は5%水準で有意であることを表す

第7表 ジネンジョの倍加がいもの形状に及ぼす影響（2002年）

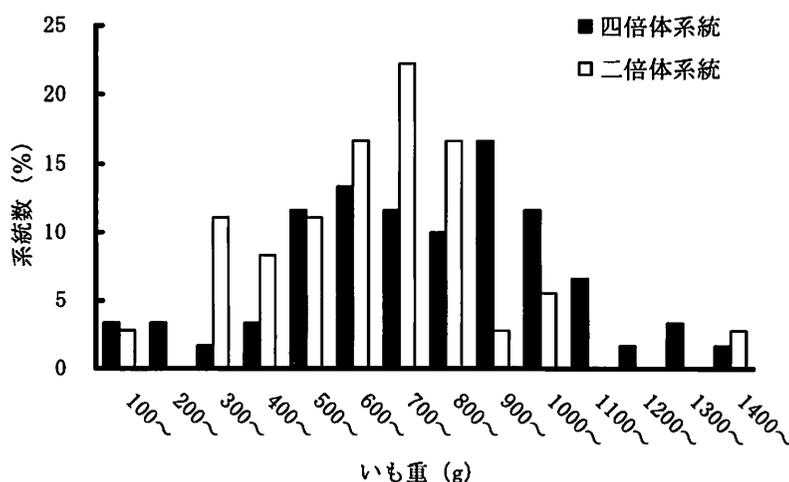
倍数性	系統数	長さ (cm)	重さ (g)	肥大程度 (g/cm)
四倍体	56	92 (74)	533	5.7 (119)
二倍体	35	125 (100)	596	4.8 (100)
		**	n. s.	**

注1) 同一の種子胚由来（同一系統）でも倍数性が異なる場合は、四倍体と二倍体に分けて扱った

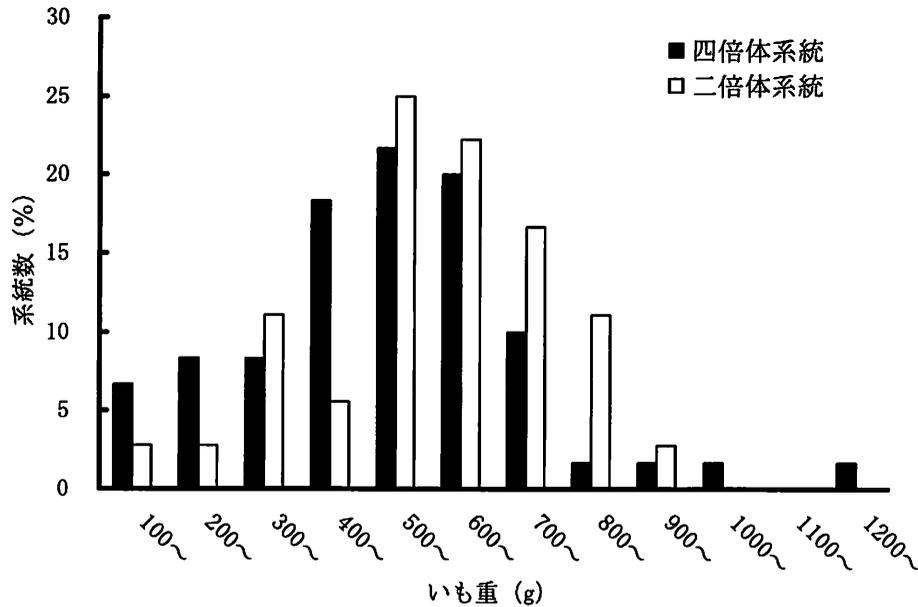
2) いも重100g／個以上を対象とした

3) ()内は二倍体に対する相対比

4) t検定により、n. s.は5%水準で有意差なし、**は1%水準で有意であることを表す



第3図 ジネンジョの倍加がいも重に及ぼす影響（2001年）



第4図 ジネンジョの倍加がいも重に及ぼす影響 (2002年)

第8表 ジネンジョの倍加がいもの形状に及ぼす影響 (同一胚由来、2001年)

倍数性	系統数	長さ (cm)	重さ (g)	肥大程度 (g/cm)
四倍体	3	83	728	8.6
二倍体	3	92	638	6.8
		n. s.	n. s.	n. s.

注1) 同一の種子胚由来で、二倍体と四倍体が存在した系統について比較した

2) いも重100g/個以上を対象とした

3) 肥大程度は長さ/重さとした

4) t検定 (5%水準)により、n. s. は有意差が無いことを表す

第9表 ジネンジョ倍加がいもの粘度に及ぼす影響

倍数性	2001年		2002年	
	系統数	粘度 (P)	系統数	粘度 (P)
四倍体	31	229	48	330
二倍体	10	207	32	321
		n. s.		n. s.

注1) 回転式粘度計 (VT-06、リオン社製) を用いて測定した

2) t検定 (5%水準)により、n. s. は有意差がないことを表す

IV 考 察

1. コルヒチン処理方法が倍数性に及ぼす影響

胚培養の培地組成は、予備試験の結果から、ホルモン無添加の1/2MS培地とした。本試験では種子胚を置床材料として用いたことから、コルヒチン無処理区での発

芽率は100%と高く、培養は容易であった。倍加処理に用いたコルヒチンの処理方法にはいくつかの方法が知られている。本試験では組織培養とコルヒチン処理とを組み合わせた方法を用いた。宮崎ら(1985)は、サトイモを材料に、この方法を用いてコルヒチン濃度0.05%、処理日数2~6日で倍加個体を作出している。本試験のジネンジョ種子胚ではコルヒチン濃度0.05%で3日間以上処

理することで発芽個体の50%以上を倍加できた。しかし、処理日数の増加は種子胚の発芽率を低下させ、置床数当たりの倍加効率を大きく低下させた。また、コルヒチンは突然変異物質でもあることから、長時間の処理は、突然変異を誘発しやすくなる。5～7日間処理で葉の奇形などが多く発生したのはこのためと考えられる。これらのことから、ジネンジョ種子胚を効率的に倍加するための処理日数は3日間が適当と考えられる。

コルヒチン処理を行うとキメラ個体となりやすいため、組織培養などによって倍加組織を分離する必要がある(松尾, 1982)とされている。第3表に示した本試験では、馴化当初はキメラであった系統が、栽培年次を重ねるだけで二倍体または四倍体の一方に収束する例がみられた。ジネンジョは、いもから発生する定芽または不定芽を経て生育し、世代を繰り返す。この過程で、特定の倍数性組織のみを含む生長点が生長したために、一方の倍数性に安定したと考えられる。同一種子胚由来の系統内に二倍体と四倍体の個体が混在したのは、このような理由によるものと考えられる。

2. 倍加処理がジネンジョの葉およびいもの形質に及ぼす影響

本試験で得られた系統は、遺伝的背景が異なる交雑実生を材料としている。また、コルヒチン処理は染色体の倍加だけでなく、突然変異も誘発する。そのため、本試験において倍加の影響を検討するには、染色体数別の系統群間での相対的な比較が重要になる。一方、同一系統内、すなわち同一種子胚由来株の中から発生した倍数性が異なる個体は、コルヒチン処理後に分離したもので、遺伝的背景は同様であることから、倍加の効果を直接反映していると考えられる。

葉の形では、四倍体系統群は二倍体系統群に比べて、長さは変わらないが、葉幅が広くなり、葉の縦/横比が小さくなる傾向であった。これは、遺伝的背景が同じ同一系統内の二倍体と四倍体を比較した場合と同様の傾向であり、本試験の系統群としての比較の有効性を示している。このことから、ジネンジョの葉は倍加により葉幅が広くなり、ヤマトイモ様になると考えられる。

同様に、いもの形状については、調査した2カ年とも、四倍体系統群は二倍体系統群に比べて、いもの長さが短くなり、いもの重量に一定の傾向はなく、長さ当たりのいも重が重くなり太いものとなった。同一系統内での比較では、調査系統が3系統と少ないこともあり、統計的に有意な差は認められなかったが、いもの長さ、肥大程度については系統群比較の場合と同様の傾向を示した。このことから、ジネンジョでは倍加によりいもは短く、

太くなると考えられる。

多くの場合に四倍体の栄養器官は旺盛な生育を示し、強剛な植物体となって巨大化するが、ゲノム累積による形質の増大は、同質倍数体で5倍程度とされている(松尾, 1982)。ヤマノイモ属の染色体の基本数は10または9本である。ダイジョは通常 $2n=80$ 、ナガイモは $2n=140$ であるなど、栽培種には染色体数の多いものがみられ、ヤマノイモ属作物は染色体数の倍数化や増加により改良が進められてきたと考えられる(佐藤, 1989)。一方、 $2n=40$ であるジネンジョは、強い粘りや独特の香りを有することから山菜として珍重され、栽培容器やウイルスフリー種苗活用技術の開発により圃場での栽培が普及した。しかし、ナガイモと比べて、いもの形状が細長く、貯蔵性にも劣る。そのため、掘り取り作業など栽培で多くの労力を必要とし、流通や調理加工性が悪いなど、作物としての品種改良はほとんど進められていない。高次倍数性ジネンジョの新たな作物としての有用性が期待される場所である。

本研究の結果から、四倍体ジネンジョは二倍体のそれと比して、いもの長さは13～26%短くなり、肥大程度は19～34%増加し、ジネンジョのいもは、倍加により栽培や利用のしやすい形状に変わることが明らかとなった。また、倍加により葉幅が広がり、1葉当たりの葉面積が広がったこと。さらに、ジネンジョの重要形質である粘度は、倍加により低下することなく、維持できたことから、倍数性育種はジネンジョの育種手法として有効な手段の一つであると考えられる。

V 摘 要

1. ジネンジョにおける倍数性育種の有用性を明らかにするために、倍加ジネンジョの作出方法と倍加ジネンジョの特性について調査した。
2. ジネンジョの種子胚は、1/2MS基本培地にMSビタミン、ショ糖(30g/l)、寒天(9g/l)、コルヒチン(0.05%)を添加し、pH5.8に調製した培地で3日間以上胚培養することで、発芽し馴化できた個体の50%以上が倍加した。倍加効率は処理期間3日間で最も高かった。
3. 倍加したジネンジョの葉は、二倍体のジネンジョに比べて、幅が広くなり、ヤマトイモ様の形状となった。
4. 倍加したジネンジョのいもは、二倍体ジネンジョに比べて、短く、太くなった。すりおろした場合の粘度は変わらなかった。
5. 以上の結果、ジネンジョにおける同質四倍体作出による倍数性育種は、育種の有効な一手段であると考えられた。

VI 引用文献

荒木肇・原田隆・八鍬利郎(1987). ヤマノイモ属の性状に関する研究(第2報) ジネンジョとナガイモの種間雑種について. 園芸学会昭和56年度秋期大会研究発表要旨. 140-141.

荒木肇・浅野裕司・八鍬利郎(1989). ヤマノイモ交雑実生からの優良株の選抜. 園芸学雑誌58別1, 196-197

飯田孝則・西岡幹弘・井戸豊・江間三郎・石井卓朗・森田正勝(1991). 栄養系選抜法によるジネンジョ優良系統の育成. 愛知農総試研報. 23, 193-198

飯田孝則・加藤俊博・浅野裕司・和田朋幸(2001). ジネ

ンジョ新品種「夢とろろ」の育成. 愛知農総試研報 33, 115-122.

松尾高嶺(1982). 育種学. 208-220. 養賢堂. 東京

宮崎貞巳・田代洋丞・金澤幸三・松本弘幸(1985). サトイモの茎頂培養のコルヒチン処理による倍数体の作出と倍数体の特性. 佐賀大農彙59, 37-45

農林水産省農産園芸局編(1983). 昭和57年度種苗特性分類調査報告書. 日本園芸協会. 東京.

角田重三郎(1991)新版植物育種学169-187. 文永堂出版株式会社. 東京.

佐藤一郎(1989). 野菜園芸大百科13, 323-338. 農文協. 東京

Production of Japanese Yam (*Dioscorea Japonica* THUNB.) Polyploids and Characteristics of their Polyploids

Kenji SUZUKI, Mari OHARA and Hirokuni IWASA*

Key words : japanese yam , breeding , polyploidy , doubling

Summary

1. To make clear the usefulness of polyploidy breeding, we produced japanese yam (*Dioscorea Japonica* THUNB.) polyploids and investigated characteristics of them .
2. The seed-derived embryos were cultured on 1/2 MS basal medium supplemented with MS vitamins , sugar(30g/ℓ) , agar(9g/ℓ) and colchicine(0.05%) and adjusted pH at 5.8 . More than 3 days culturing , doubled over 50% of acclimatized individuals. The treatment for 3 days was the most efficient for doubling .
3. The teraploid leaves were more wide than diploid ones, and chinese yam -like.
4. The tetraploid tubers were shorter and more thick than the diploid ones . The tetraploid tubers were sticky as same as diploid ones.
5. As the result , it was concluded that polyploidy breeding was one of the useful methods for japanese yam breeding.

(*Present Address : Kaisou Agriculture and Forestry Promotion Center)