

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450042

研究課題名(和文) ヤマノイモの腋芽をむかごへと誘導する現象を細胞化学的・生理化学的観点から解析する

研究課題名(英文) Analysis of aerial tuber development from shoot axil using cytology and physiology viewpoint in Chinese yam

研究代表者

吉田 康徳 (Yoshida, Yasunori)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：40291851

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：むかごへと発育する葉腋にある副芽までBrdUを輸送して細胞分裂頻度の計測を試みたが、期待した成果が得られなかった。しかし、むかごの発育に作用する枝葉と新芋の発育の関係では、葉重から枝重、地上部重から葉重の回帰式を算出すると、いずれも決定係数(R<sup>2</sup>)が0.888～0.950と高いことが明らかとなった。また、時期別の灌水量の大小で、枝葉と新芋の発育が促進または抑制されることを明らかにした。さらに、施肥方法は各器官への乾物の分配率に作用し、施肥量が不足する場合、新芋への乾物の分配を促進し、過剰の場合、枝葉への乾物の分配を促進することが示された。今後はこれらの知見を活用して研究を進める予定である。

研究成果の概要(英文)：I could not transfer BrdU from a bottom of stem to accessory bud, which developed to aerial tuber, for calculate the division frequency. However, I could get various result about the relationship shoot and new tuber growth, which influenced the aerial tuber growth. Regression equation got from leaves dry weight to stem dry weight and from shoot dry weight to leaves dry weight were high coefficient of determination. It was cleared that shoot and new tuber growth was promoted or inhibited by amount of irrigation at each different growth stage. Further, dry weight distribution to each organ was influenced by different method fertilization. Namely, in case of lack of fertilizer, there were a lot of the distribution of dried photosynthate weight to new tuber were increasing, while, in case of sufficiently of fertilizer, there were a lot of the distribution of dried them weight were increasing. I will kept studying about aerial tuber development using above result in future.

研究分野：野菜園芸学

キーワード：むかご 切片 枝葉の発育 灌水量 施肥時期 施肥量

### 1. 研究開始当初の背景

ヤマノイモの葉腋に発育するむかご(珠芽とも呼ばれる)は、形態的には地下部に発育する新芋と同じ塊茎の一種である担根体である。一方、そのような観点から、新芋は枝の最基部(地下部)の葉腋に着生したむかごが肥大したものとも解釈される。このむかごは、一部が翌年の種芋に活用される場合もあるが、むかごの発育は、新芋生産上、大変厄介なものとなっている。つまり、第1には、新芋と同じ形態であるため、光合成産物を葉腋に着生するむかごと地下部に発育する新芋の間で競合がおこること、第2に、圃場に落ちれば翌年萌芽し、雑草化し病害虫の発生源となることが指摘されている。

申請者は、これまでむかごの発育に関して、温度、日長および植物成長調整物質の影響について詳細に検討してきた。しかし、もともとは枝の葉腋に存在する第2副芽が、特異な形態的な変化を経てむかごへと発育する細胞化学的および生理化学的観点から検討してこなかった。また、むかごと新芋は形態的には同じ担根体であり、その葉腋に発育することから、新芋と枝葉の発育は、むかごの発育およびその発育量に強く作用するため、枝葉と新芋の関係を明らかにすることは重要である。

そこで、本研究では、むかごの発育を細胞化学的および生理化学的観点から明らかにするとともに、枝葉の発育と新芋の発育の関係からむかごの発育に資する知見を明らかにする。

### 2. 研究の目的

(1) 申請者は鉢植えしたヤマノイモを1週間程度の上下逆にした「垂下処理」によって、容易にむかごの発育を促進できるとともに、地上部に50~100ppm程度の「ジベレリン処理」を行うことで、抑制できることを明らかにした。この促進と抑制の処理を組み合わせ、葉腋に存在する腋芽(第2副芽)がむかごへと誘導される特異な現象を細胞化学的および生理化学的観点から解析する。

(2) 枝葉と新芋の発育の関係を明らかにするため、これまで、枝葉または新芋の発育に強く作用することが知られている時期別の灌水および施肥方法を組み合わせ、枝葉と新芋の発育に及ぼす影響を解明することを通して、枝葉の葉腋に発育するむかごの発育制御に資する知見を明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1) 材料はナガイモを用いて、催芽した種芋をポットに定植後、1.5m程度伸長したら、垂下処理を開始する。3日間の処理で副芽がむかごへと誘導されるので、副芽内では盛んに細胞分裂に伴うDNAの複製が行われている可能性が高い。そこで、Ogawa et al. (2006)の手法に従い、DNAが合成される時、チミジンの代わりに5-bromo-2-deoxyuridine(BrdU)が取り込まれることを利用して、そのモノク

ローナル抗体と酵素または蛍光色素を結合した二次抗体を用いると、蛍光顕微鏡下で細胞分裂頻度を可視化し、定量を試みた。

(2)-① 材料はツクネイモを用いて、5、10、15および50gの重さに切り分けた種芋を催芽させ、5月下旬に圃場へ5、10および15gは、それぞれ10、15および20cmで、50gは慣行栽培の40cmの株間の二条植えて定植した。定植後は200cm程度のキュウリネットに誘引し、以後放任とした。葉数、葉重および枝重を計測し、葉重(乾物重)と葉面積の回帰式から葉面積を換算し、葉面積指数も算出した。これらの値を活用して枝葉の発育と新芋の発育に及ぼす回帰式を算出した。

(2)-② 材料はツクネイモ「石川」を供試した。15と50gの重さに切り分けた種芋を催芽させ、6月21日に山砂を詰めた10号菊鉢に定植し、無加温ビニルハウス内で栽培した。基肥は1鉢当たり、エコロングMを2g、マイクロロング2gと千代田化成を2g、マルイ有機を60g施肥した。追肥は7月16日または8月26日に行い、それぞれ千代田化成2gまたはUFダイアンを2g施肥した。無施肥区は基肥と追肥無しで栽培した。実験1:灌水量が収量に及ぼす影響。対照、6~7月少灌水(6月少)または多灌水(6月多)、8~9月多灌水(8月多)または少灌水(8月少)の5処理を設け、対照の2回/週の灌水に対して、多灌水で3回/週、少灌水では1回/週の灌水とした。灌水は1回当たり10/鉢で行った。実験2:追肥時期が収量に及ぼす影響。7月と8月に上記の通り追肥した対照に対して、7月のみ追肥(7月追肥)および8月のみ追肥(8月追肥)の3処理区を設けた。各処理区12個体を用いた。掘り取り調査は9月8日(1回目)、10月16日(2回目)、11月24日(3回目)に実施し、それぞれ、3から5個体を用いた。なお、葉面積は葉重(乾物重)から回帰式( $Y=242.3X+2.08$ ,  $R^2=0.9714$ )を用いて推定した。

(2)-③ 材料はツクネイモ「石川」を供試した。15と50gの重さに切り分けた種芋を催芽させ、5月18日に無施肥の山砂を詰め、かさ上げした10号菊鉢(直径33.2cm×高さ45cm)へ定植し、無加温ビニルハウス内で栽培した。灌水には微量要素入り粉末肥料(N:P:K=20:20:20)をEC=1.3mS/cm(標準液肥)またはEC=2.6mS/cm(高EC)に調整した液肥を毎日与えた。施肥条件は、両種芋重区とともに、無施肥(水道水)、標準液肥(対照)、6月まで無施肥で以後は標準液肥(無施肥+6月)、7月まで無施肥で以後は標準液肥(無施肥+7月)、7月まで高ECで以後は標準液肥

(前期高 EC) および 7 月まで標準液肥で以後高 EC(後期高 EC)の計 6 区を設け、各処理区 15 個体を用いた。掘り取り調査は 8 月下旬および 12 月中旬の計 2 回、4~5 個体を用いて行った。

#### 4. 研究成果

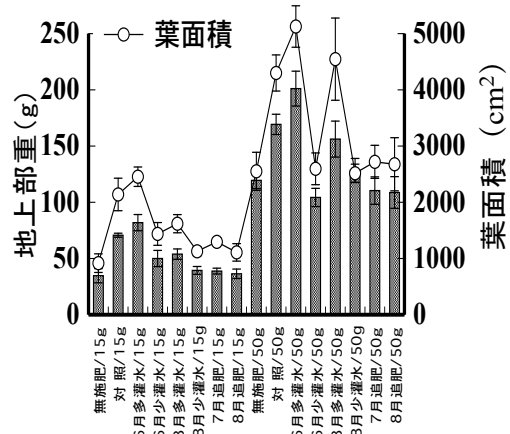
(1) 細胞の分裂頻度を蛍光顕微鏡下で計測するためには、BrdU がむかごへ変化する直前の腋芽に安定して取り込まれさせる手法を開発する必要がある。そのため、BrdU が目的とする葉腋まで輸送される時間を明らかにするため、トリイジンブルー色素の葉腋までの移動で計測を試みたが、葉への輸送が観察できたが、葉腋には認められなかったため、期待した細胞分裂頻度を可視化することができなかった。今後も引き続き、検討する予定である。

(2) -① 生育盛期の 8 月掘り取りの数値から、枝葉の発育と新芋の発育の関係：葉重から枝重、地上部重から葉重の回帰式を算出すると、いずれも決定係数 ( $R^2$ ) が 0.888~0.950 と高かったが(第 1 表)、地上部重から新芋重、葉面積から新芋重、相対日射量からの新芋重および LAI×相対日射量から収量を求める回帰式の決定係数は 0.241~0.610 と低かった。このことから、地上部における枝葉の発育は、それぞれ明確に関係していることが明らかになったが、地上部の枝葉の光合成の結果で、その発育量が決定される新芋重との関係は様々な要因が関係していることが示唆された。

(2) -② 実験 1：種芋重 15g でも、種芋重 50g でも、地上部重と葉面積は、対照と比較して、6 月多で大きい傾向が認められ、8 月多で同程度の大きさであったが、6 月と 8 月少では、小さい傾向が認められた(第 1 図)。つまり、6 月少による抑制効果は回復しないこと、8 月の多灌水では枝葉の発育は促進されないことが示唆された。新芋の発育は、対照と比較して、6 月多で大きく、6 月少で小さい傾向が認められたが、特に種芋重 50g で顕著であった(第 2 図)。同様に、8 月少でも小さい傾向が認められたが、特に種芋重 15g で顕著であった。実験 2：種芋重 15g でも、種芋重 50g でも、地上部重と葉面積は、対照と比較して、追肥の回数が対照の 2 回より 1 回少ない 7 月と 8 月追肥は同程度の大きさであったので、追肥が枝葉に及ぼす影響は不明瞭であった。新芋の発育も同様であるが、7 月追肥より 8 月追肥の方が大きい傾向が認められた。

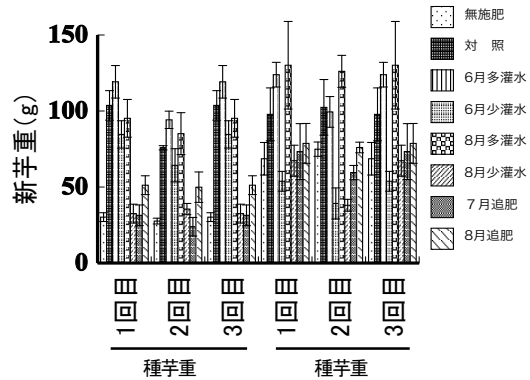
第 1 表. 種々の要因から算出した枝葉と新芋の発育に関する回帰式

回帰式との関係	回帰式	決定係数 ( $R^2$ )	危険率 (P)
葉重から枝重	$Y = 0.797 X + 57.67$	0.888	<0.0001
地上部重から葉重	$Y = 0.481 X + 22.91$	0.950	<0.0001
地上部重から新芋重	$Y = 0.65 X + 85.6$	0.610	<0.0001
葉面積から新芋重	$Y = 1.28 X + 63.3$	0.518	<0.0001
相対日射量から新芋重	$Y = 0.588/100 X + 15.55$	0.447	<0.0001
LAI×相対日射量から収量	$Y = 3.05 X + 1698$	0.241	<0.001



第 1 図 灌水量と施肥量が地上部重と葉面積に及ぼす影響。

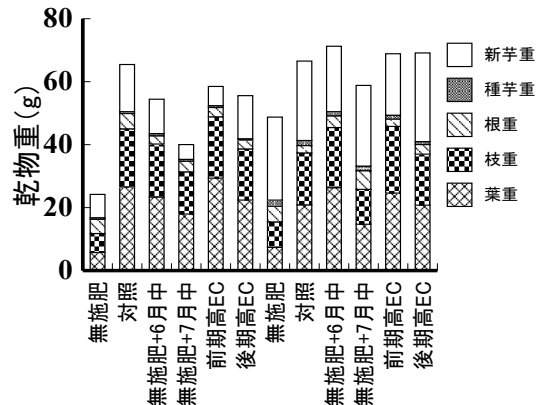
図中の縦線は標準誤差を示す。



第 2 図 灌水量と施肥量が新芋の発育に及ぼす影響。

図中の縦線は標準誤差を示す。

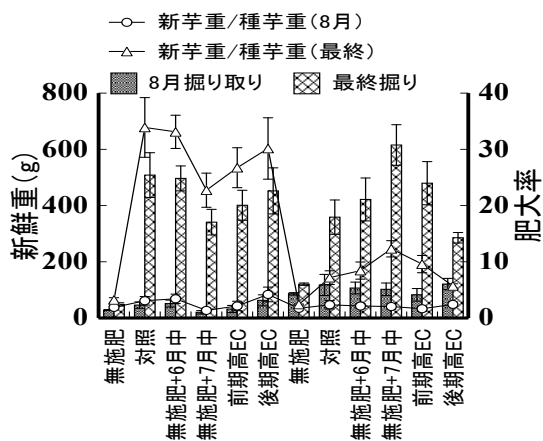
(2) -③ 枝葉の最大繁茂期である 8 月下旬の掘り取りで、種芋重 15g 区の場合、全乾物重は、対照で 65g 程度と最も大きく、次いで、無施肥+6 月および前期と後期高 EC で 54~58g 程度と同程度に大きかったが、無施肥+7 月で 40g 程度、無施肥では 24g 程度と順に小さい傾向が認められた(第 3 図)。



第 3 図 施肥方法が各器官の乾物重に及ぼす影響 (8 月掘り取り)。

さらに、各器官の乾物の分配率で比較すると（データ省略）、対照、無施肥+6月、無施肥+7月および前期と後期高ECで、葉重と枝重で70%以上を占めたのに対して、無施肥では48%程度と低い傾向が認められた。しかし、新芋重は、それらの処理区で高くても20%程度であったのに対して、無施肥では30%程度と高い傾向を示した。つまり、無施肥のように栄養状態が悪い場合、枝葉の発育より新芋の発育を優先する生育特性が示された。逆に、前期高ECのように、生育初期から栄養状態が良好な場合、枝葉と葉重が占める割合が高まり、特に、葉重で50%程度と高い傾向が認められたが、逆に新芋では11%程度と低い傾向が認められた。種芋重50g区でも、ほぼ同様の傾向が認められた。新芋重は、同じ施肥方法で比較した場合、8月掘り取りでは、種芋重50g区の方が大きかったが、最終掘り取りでは、種芋重15g区でも400g程度の大きさとなり、種芋重50g区と同程度またはそれ以上の大きさとなり、新芋重/種芋重で示す肥大率も種芋重15g区で大きい傾向が認められたが（第4図）、その要因については、今後詳細に検討する必要がある。

以上より、むかごの発育を細胞化学的および生理学観点から解析することには、期待した成果が得られず、課題が残ったが、むかごの発育に作用する枝葉と新芋の発育の関係については、有益な知見が得られたので、今後これらの成果を活用して、さらに、むかごの発育について研究を進める予定である。



第4図 施肥方法が新芋重と新芋重/種芋重比（肥大率）に及ぼす影響。  
図中の縦線は標準誤差を示す。

#### 引用文献

Ogawa, A., K. Kitamichi, K. Toyofuku and C. Kawashima. 2006. Quantitative analysis of cell division and cell death in seminal root of rye under salt stress. Plant

Prod. Sci. 9:56-64.

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計2件）

① Yoshida, Y., Kikuchi, S, Togashi, E, Takahashi, T, Takahashi, H, Kanda, H, Hosogoe, K, Kagaya, R and Kanahama, K. 2016. Effects of between seed tuber weight and intrarow spacing on the development of shoots and new tuber in Chinese yam (*Dioscorea oppositifolia* ‘Tsukuneimo’). Acta Hort、査読有、34: 73-77 (Acta Hort. 1118. ISHS 2016. DOI 10.17660 / Acta Hort. 2016. 1118.11).

② 吉田康徳・永瀬大樹・神田啓臣・富樫英悦・高橋春實. ツクネイモの小分割種芋生産法に関する研究-種芋重と株間の組み合わせが枝葉と新芋発育ならびに受光態勢に及ぼす影響-. 秋田県立大学ウェブジャーナルB (研究成果部門) 査読無し、3: 237-242. ([https://akita-pu.repo.nii.ac.jp/?action=pages\\_view\\_main&active\\_action=repository\\_view\\_main\\_item\\_detail&item\\_id=676&item\\_no=1&page\\_id=13&block\\_id=21](https://akita-pu.repo.nii.ac.jp/?action=pages_view_main&active_action=repository_view_main_item_detail&item_id=676&item_no=1&page_id=13&block_id=21)).

〔学会発表〕（計4件）

① 吉田康徳・石井貴大・神田啓臣・富樫英悦・高橋春實. 2016年3月26-27日. 東京農業大学（神奈川県，厚木市）. ツクネイモの収量に及ぼす灌水量と追肥時期の影響. 園学研15別1: 393.

② 吉田康徳・渡部恵里香・長津 瞳・富樫英悦・高橋剛郎・神田啓臣・高橋春實. 2014年9月27-28日. 佐賀大学（佐賀県，佐賀市）. ツクネイモの種芋重と株間が小分割種芋生産法に及ぼす影響. 園学研13別2: 182.

③ 吉田康徳・長津 瞳・渡部恵里香・神田啓臣・高橋春實. 2014年9月27-28日. 佐賀大学（佐賀県，佐賀市）. ツクネイモの小分割種芋生産法へのウイルスフリー種芋導入に関する研究. 園学研13別2: 415.

④ Yoshida, Y., Kikuchi, S, Togashi, E, Takahashi, T, Takahashi, H, Kanda, H, Hosogoe, K, Kagaya, R and Kanahama, K. 2014年8月17-22日. Australia (Brisbane). Effects of between seed tuber weight and intrarow spacing on the development of shoots and new tuber in Chinese yam (*Dioscorea oppositifolia* cv. Tsukuneimo). IHC 2014. USB.

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

吉田 康德 (YOSHIDA, Yasunori)

秋田県立大学生物資源科学部

准教授

研究者番号 : 40291851

(3)連携研究者

小川 敦史 (OGAWA, Atsushi)

秋田県立大学生物資源科学部

教授

研究者番号 : 30315600 研究者番号 :