

ヤムイモ (*Dioscorea* spp.)における形態的形質およびRAPD法による 系統の分類

林 満・志和地弘信・遠城 道雄

要 旨

形態的形質とRAPD法を基にしたクラスター分析では、3種の系統樹が非常に類似したが、ダイジョ (*D. alata*)の系統は、形態的形質では大まかに3群に区分され、RAPD法では5群に区分された。RAPD分析の区分と形態的形質による区分とが一致しない場合もあったことから、RAPD法による系統の区分には、系統の特異的なマーカーの検出が不可欠であると推察された。

葉脚や葉柄基部に発現するアントシアニンの有無は、ジネンジョ (*D. japonica*)やダイジョの系統を大まかに区分する指標になりうるが、系統の詳細な区分には他の指標と組み合わせる必要があろう。

インドネシアの系統には、日本の在来種、ミクロネシアおよびオセアニアの系統に類似のものも存在することから、インドネシアはダイジョの遺伝的変異が大きい地域と推察され、分析結果から、日本の在来種は東南アジアから導入された可能性が大であると推定された。

キーワード：形態的形質、系統、分類、RAPD、ヤムイモ

CLASSIFICATION OF YAMS (*Dioscorea* spp.) BASED ON MORPHOLOGICAL CHARACTERS AND RAPD METHOD

Mitsuru HAYASHI, Hironobu SHIWACHI and Michio ONJO

Abstract

Water yams (*D. alata*) could be classified on the characteristics of leaves, stems and aerial tubers. It was difficult to distinguish some strains of chinese yam (*D. opposita*) from jinen-jo (*D. japonica*) because of similarity of morphological characteristics. However, jinen-jo was distinguished from chinese yams by using RAPD method. This suggests that the random amplified polymorphic DNA (RAPD) method is useful for identification of species of yams.

The dendrogram based on the RAPD method corresponded with cluster analysis based on the morphological characteristics among the three species of yams. On the other hand, water yams were classified into three groups by cluster analysis based on the morphological characteristics, but were classified into five groups by the RAPD method. In RAPD analysis, morphological characteristics of strains may differ from each other. Therefore to classify yam strains using the RAPD method, it is necessary to use RAPD marker related to the specific characteristics.

It was able to use that the appearance of anthocyanin on the leaf axil or petiol made indicator for classification in the strains of water yam and jinen-jo roughly. However, circumstantial classification of the strains should be combined with another indicator.

Based on both analysis of morphological characteristics and the RAPD method in water yam,

the strains from Indonesia were found to be similar to Japanese, Micronesian and Oceanian strains. This result suggests that the variation of water yam in Indonesia is quite large. The strains of water yam in Japan have characteristics similar to the strains of Indonesia not those of Micronesia and Oceania. This suggests that Japanese strains were originated from South-East Asia.

Key words: Classification, Morphological characters, RAPD method, Strains, Yams

緒 言

日本各地で栽培されるナガイモは、いもの形状等によって3群に分けられ、それぞれの群には多くの品種や在来種がある(熊沢1959, 佐藤1974)。各地に自生するジネンジョは、茎葉がナガイモに似ており、両者を明確に判別できない場合もある(佐藤1974)。一方、ダイジョは、茎および葉柄に翼を有し、低温に対する耐性が弱く、栽培が沖縄や南九州のような温暖地に限られ、ナガイモやジネンジョとは生態および形態的特徴がかなり異なっている(佐藤1974, 志和地ら1999)。

熱帯地方に広く分布するダイジョは多くの系統に分化している(MARTIN1976, 豊原ら1996)。MARTINら(1973, 1977, 1972)は、西インド諸島やインドのダイジョ系統についてアントシアニンの発現、茎の形状、塊茎の頸長などの形質やイモの香味などによって区分できることを報告している。著者ら(1995)は、東南アジアやオセアニアから導入されたダイジョにおいて、アントシアニンの発現の有無や葉形が系統の区分に有効であることを報告した。しかし、ダイジョの品種や系統の形態的形質は極めて近似し、さらに生態および形態的特性に不明な点が多いために、区分が非常に困難である。

ナイジェリアの国際熱帯農業研究所(IITA)では、ギニアヤム(*D. cayenensis*/*D. rotundata*)について、形態的形質やアイソザイムパターンの違いを用いて種および系統間の遺伝的類似性を判定し(HAMONら1990)、最近ではRAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)法、RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphisms)解析やAFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)解析を用いて、ギニアヤムの栽培種とその近縁野生種との関係を明らかにする試みがなされている(MIGNOUNAら1998, TERAUCHIら1992, THOTTAPPILLYら1999)。

本研究では、鹿児島大学に保存されているヤムイモの3種58系統について、RAPD法と形態的形質による種の分類および系統の区分を試みた。

材料および方法

鹿児島大学農学部保存されているダイジョの48系統、ナガイモの8系統およびジネンジョの2系統の計58系統を供試した(第1表)。

収穫後、それぞれ15℃で貯蔵されていたダイジョの塊茎を初春に室温条件下にもどして、休眠を覚醒させ、チウラム・ベノミル剤200倍溶液で10分間消毒した後、約75gに切り揃え、TPN剤を塗布し、さらに切断面の乾燥を促すために、約1週間室内に放置した。そして、塊茎はパーミキュライトを詰めたコンテナに並べて催芽させ、種イモとした。

種イモは、4月28日に大学内の砂壤土の圃場に90cm×50cmの栽植密度で植付け、つるは1mの支柱に誘引し、通常の栽培管理を行った。

施肥量は、炭酸苦土石灰を100kg/10a、N:P₂O₅:K₂O=10:10:10の固形肥料を基肥として分量で20kg/10a、追肥として2kg/10aを施した。

1. 形態的形質による種の分類および系統の区分

本実験には3種58系統を供した。形質調査は、各系統とも5株ずつを用い、植物遺伝資

Table 1. Code number, their recent geographic sources and classification based on the morphological criteria of the tested yam

Species	Code No.	Cultivar/strain name	Geographic source	Classification based on morphological criteria
<i>D. alata</i>	A- 1	Unknown	Indonesia	V
	A- 2	Unknown	Indonesia	V
	A- 3	Unknown	Indonesia	V
	A- 4	Unknown	Indonesia	III
	A- 5	Unknown	Indonesia	III
	A- 6	Unknown	Indonesia	IV
	A- 8	Unknown	Indonesia	III
	A- 9	Soloyam	Indonesia	V
	A-11	Unknown	Nauru	III
	A-12	Unknown	Papua New Guinea	III
	A-16	Unknown	Papua New Guinea	III
	A-40	Unknown	Papua New Guinea	IV
	A-41	Unknown	Papua New Guinea	III
	A-42	Unknown	Papua New Guinea	IV
	A-43	Unknown	Papua New Guinea	IV
	A-44	Unknown	Papua New Guinea	IV
	A-45	Unknown	Papua New Guinea	III
	A-47	Unknown	Papua New Guinea	III
	A-48	Unknown	Papua New Guinea	III
	A-61	Listeye	Papua New Guinea	III
	A-62	Sulka	Papua New Guinea	III
	A-63	Nami warumbo	Papua New Guinea	III
	A-17	Unknown	Palau Is.	IV
	A-19	Unknown	Palau Is.	III
	A-20	Unknown	Palau Is.	III
	A-22	Unknown	Palau Is.	III
	A-28	Unknown	Palau Is.	IV
	A-29	Unknown	Palau Is.	IV
	A-30	Unknown	Palau Is.	IV
	A-31	Unknown	Palau Is.	IV
	A-32	Unknown	Palau Is.	IV
	A-33	Unknown	Palau Is.	III
	A-36	Unknown	Pohnpei Is.	III
	A-64	Unknown	Pohnpei Is.	III
	A-65	Unknown	Pohnpei Is.	III
	A-34	Unknown	Okinawa, Japan	III
	A-35	Unknown	Okinawa, Japan	IV
	A-49	Unknown	Kagoshima(Amami-oshima), Japan	III
	A-54	Unknown	Kagoshima(Tokuno-shima), Japan	IV
	A-55	Tsukuncimo	Kagoshima, Japan	V
A-56	Arata	Kagoshima, Japan	V	
A-57	Osato no. 1	Kagoshima, Japan	V	
A-58	Osato no. 2	Kagoshima, Japan	V	
A-59	Tsukuncimo	Kagoshima, Japan	V	
A-66	Unknown	Kagoshima, Japan	V	
A-67	Unknown	Kagoshima, Japan	V	
A-68	Unknown	Kagoshima, Japan	V	
A-60	Unknown	Chiba, Japan	V	
<i>D. opposita</i>	O- 1	Shinsyuu	Nagano, Japan	II
	O- 2	Tokuri	Aomori, Japan	II
	O- 3	Himijin	Fukui, Japan	II
	O- 4	Ichyou(Ichyou strain)	Kanto Area, Japan	II
	O- 5	Ichyou(Baci strain)	Kanto Area, Japan	II
	O- 6	Ise	Mie, Japan	II
	O- 7	Kagamaru	Fukui, Japan	II
	O- 8	Yamanoimo	Hyogo, Japan	II
<i>D. japonica</i>	J- 1	Jinen-jo	Kagoshima, Japan	I
	J- 2	Jinen-jo	Kagoshima, Japan	II

Table 2. Factor loading and contribution of the first (Z1), second (Z2) and third (Z3) principal component for 23 characters

	Character	Component		
		Z ₁	Z ₂	Z ₃
Factor loading	Plant vigor	-0.32	0.68	-0.05
	Branching	-0.09	0.75	-0.07
	Number of vines	-0.42	0.45	0.41
	Diameter of stem	-0.74	-0.03	-0.48
	Stem wings	-0.90	-0.23	0.08
	Stem color	0.77	0.03	-0.46
	Cross section of stem	-0.78	-0.23	0.22
	Phyllotaxy	0.06	0.17	0.39
	Leaf shape	-0.34	0.17	0.47
	Leaf color	-0.01	-0.31	-0.48
	Length of leaf	-0.92	0.06	-0.14
	Breadth of leaf	-0.83	0.03	-0.37
	Length/breadth ratio	-0.51	-0.02	0.46
	Base depth of leaf	-0.80	0.10	-0.29
	Shoulder breadth of leaf	-0.66	0.29	-0.04
	Petiole length	-0.86	0.17	-0.18
	Pigmentation of petiole(reddish color)	0.55	-0.43	0.12
	Pigmentation of leaf axil	0.55	-0.43	0.12
	Aerial tuber formation	0.76	0.43	-0.16
	Aerial tuber shape	0.32	0.88	-0.04
	Aerial tuber size	0.11	0.89	0.02
	Skin color of aerial tuber	0.32	0.88	-0.04
	Flowering	0.59	0.08	-0.15
Contribution(%)		36.10	19.70	8.00

源特性調査マニュアル(農業生物資源研究所)および農林水産省野菜・茶業試験場の種苗特性分類調査基準(高柳ら1983, 西田ら1984)に準じて行った。そして, 23形質(第2表)について, ユークリッド距離を用いた群平均(UPGMA)法によるクラスター分析と主成分分析を行った。

2. RAPD法による種の分類および系統の区分

本実験には, 形態的形質によるクラスター分析で得られた系統樹を結合距離30%で切断し, 分けられたダイジョの14群のそれぞれの代表的な14系統(A-2, A-5, A-6, A-8, A-9, A-12, A-16, A-22, A-31, A-40, A-44, A-47, A-57およびA-65)にジネンジョのJ-1およびJ-2とナガイモのO-1とを加えた計17系統を供試した。

材料は, それぞれの生葉からDNAをラウリル硫酸ナトリウム(SDS)法によって抽出し, TE(1M Tris-HCl, 0.5M EDTA)溶液を加え, 実験時まで-20℃で保存した。次に, それぞれの材料のDNAの濃度を20ng/mlに調整し, 10merのランダムプライマー(Operon社), 耐熱性DNAポリメラーゼ(宝酒造社製)を用いてPCR(Polymerase chain reaction)反応を行った。PCR反応には遺伝子増幅用プログラム高温槽を用いて, 熱変性反応を92℃で1分, アニリング反応を42℃で1分, 伸長反応を72℃で2分行い, これを1サイクルとして, 45サイクル行なった。そして, 得られたPCR産物を1%アガロースゲルで電気泳動し, エチジウムブロマイドで染色後, 写真撮影し, バンドの有無を調べた。

1) クラスター分析

供試系統のうちからJ-2を除いた16系統について, 得られたバンドパターンをもとに各系統間の類似度を求め, 最遠近法によるクラスター分析を行った。

2) J-2とO-1のPCR産物の比較

3種類のプライマーを用いてJ-2とO-1のPCR産物の比較を行った。

結 果

1. 形態的形質による種の種類および系統の区分

全ての形質調査の結果をもとにクラスター分析を行い、系統樹を作成したが、ダイジョの系統においては、地上部と塊茎の形質の相関が低かったために、得られたクラスターの配列に関連性を見出し得なかった。そこで、地上部の23形質(第2表)についてクラスター分析を行い、系統樹を作成し、その結果を第1図に示した。

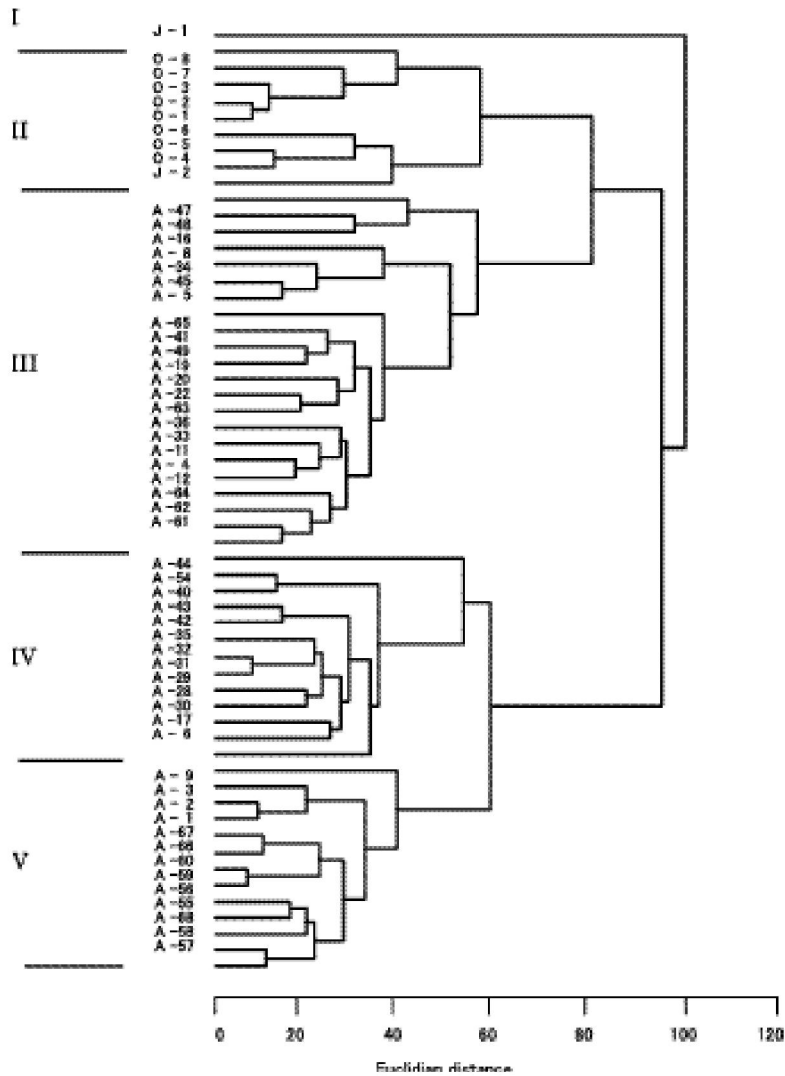


Fig. 1. Dendrogram of yam strains obtained from the cluster analysis based on the determinations of morphological characters. The code number of each strains show in Table 1. The extreme left indicates I to V are the grouping based on the dendrogram.

