

原著論文

サトイモ品種・系統の AFLP 法による分類と特性調査

米田祥二・西本登志・佐野太郎

Grouping by AFLP Method and Characterization of Taro Varieties

Hirotsugu YONEDA, Toshi NISHIMOTO and Taro SANŌ

Summary

Amplified fragment length polymorphism (AFLP) was investigated for cluster analyses in 17 strains of taro. There were two clusters based on AFLP. No AFLP variation was observed among 'Ajimaimo', 'Onoimo', 'Kamishokei', and 'Dodare'. Moisture content of cluster that included 'Ajimaimo' was higher than in the other cluster. There was a significant negative correlation between moisture content and corm hardness. AFLP-based genetic distance among 'Ajimaimo', 'P51', 'Kisyuimo' and 'Hyugaimo' agreed better with their physical properties.

Key Words: AFLP, *Colocasia esculenta* (L.) Schott, moisture content, sensory evaluation

本研究は第 34 回・平成 19 年度園芸振興松島財団研究助成で実施した。

緒言

サトイモ (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) は、指定野菜の一つであり、多くの品種・系統(15 品種群, 35 代表品種)が生産・消費されている⁵⁾。我が国の平成 27 年産の作付面積と出荷量はそれぞれ、1 万 2500 ヘクタールと 9 万 7800 トンであり、いずれも減少傾向にある。また、一人あたりの年間購入量も減少傾向であり、平成 25 年以降は 600g 台で推移している¹⁾。西本ら¹²⁾はこれまでにサトイモの調理特性を調査し、食感・食味に大きな違いが存することを認め、同一品種群内では多少の量的変異が存在するだけで基本的形質は共通であるという熊沢ら⁵⁾の分類と異なる結果を得た。サトイモは容易に品種名が不明となる可能性があり、分類についての様々な報告^{2,8,13)}がなされているが、球茎(以下、芋と表す)の物性と併せて評価した報告はほとんどない。そのため、品種分類と調理特性を併せて再分類し整理することは、生産・消費上の混乱を避け、品種名と好適調理法をセットにした情報提供を行う上で必要であると考えられる。また、「味間いも」は、奈良県が「大和の伝統野菜」に認定しており¹⁰⁾、遺伝的位置づけを明確にすることは特産化を図る上で重要である。

本研究では、サトイモの代表的な品種と幾つかの在来系統を対象に AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) 法による分類と、形質・食味調査による特性評価を行ったので報告する。

材料および方法

実験 1 AFLP 法によるサトイモ 17 品種・系統の分類

1) 供試材料

奈良県農業総合センター(現在、農業研究開発センター)内圃場で栽培したサトイモ「味間いも」(奈良県田原本町味間在来種, 味間で営農を行う生産者より 2002 年に導入), 「セレベス」(株)タカヤマシードより 2002 年に導入), 「上庄系」(福井県大野市上庄地区在来種, 福井県立大学より 1993 年に導入), 「大野芋」(福井県大野市在来種, 福種(株)より 2002 年に導入), 「唐芋」(葛城市の生産者より 2002 年に導入), 「烏播」(橿原市の生産者より 2002 年に導入), 「赤芽大吉」(橿原市の量販店より 2003 年に導入), 「紅ずいき」(大阪府泉州地域在来種, 奈良県平群町の生産者より 2005 年に導入), 「親責」(桜井市の知人から譲渡を受けた奈良県平群町の生産者より 2005

年に導入), ‘リッチキング’(京都大学選抜系統, 2005年導入), ‘吉井芋’(豊岡市の生産者より導入), ‘十津川系’(奈良県南部農林振興事務所より導入), ‘日向芋’(奈良県南部農林振興事務所より導入), ‘紀州芋’(五條市の生産者より導入), ‘土垂’(市民の森・見沼グリーンセンター栽培種を埼玉県さいたま農林振興センターより2005年に導入), ‘P51’⁷⁾(京都大学選抜系統, えぐ芋の変異系統, 2005年導入), ‘八つ頭’(樫原農園より2002年に導入)を用いた。各品種・系統ともに, 種芋は同一株から採取したものをを用いた。

2) AFLP 法による分類

2008年8月から9月にかけて, 未展開葉を採取し, DNeasy Plant Mini Kit(キアゲン社)でDNAを抽出し, エタノール沈殿させ精製した。制限酵素処理とアダプターのライゲーションは AFLP Ligation and Preselective Amplification Module Regular Plant Genomes (Applied Biosystems) を用いた。予備的増幅のプライマーは *EcoRI*+A/*MseI*+C とし, 選択的増幅のプライマーは第1表の通りとした。アレル解析は DNA フラグメント解析システム(ABI PRISM 蛍光プライマー, Applied Biosystems 3130 ジェネティックアナライザ, GeneMapper ソフトウェア)を用いて行った。解析アレル数は221(21プライマーセット)とした。得られたデータから EZR³⁾により群平均法で階層的クラスタ分析を行った。

第1表 プライマーセットと解析アレル数

Table 1. Primer sets and alleles

プライマーセット		アレル数
<i>EcoRI</i>	<i>MseI</i>	
AGG	CAC	15
	CAG	13
	CAA	8
AGC	CAT	8
	CTA	9
	CTC	13
ACG	CTG	17
	CAA	14
	CAG	12
ACT	CAA	11
	CAG	9
AAG	CAC	8
	CAC	20
ACA	CAG	6
	CTC	4
	CTG	10
ACC	CAC	5
	CAG	8
	CAT	7
	CTC	6
	CTG	18

実験2 表現型の調査

供試材料として, 奈良県農業総合センター内圃場で栽培した ‘味間いも’を除く16品種・系統を用いた。2008年5月7日に定植し, 2008年9月17日に葉柄色, 襟掛けの色, 葉柄頸部と葉裏の葉脈のアントシアン着色を調査した。 ‘味間いも’は, 2006年7月31日に奈良県農業総合センター内圃場で栽培した株について調査した。

実験3 倍数性調査

調査は2016年に実施した。 ‘紀州芋’, ‘十津川系’, ‘日向芋’および ‘赤芽大吉’は収量性に乏しく普及性がないと判断し, 品種の維持を打ち切っていたため, ‘味間いも’, ‘紅ずいき’, ‘セレベス’, ‘土垂’, ‘上庄系’, ‘大野芋’, ‘親責’, ‘P51’, ‘リッチキング’, ‘唐芋’, ‘八つ頭’(松永種苗(株)より2016年に導入)および ‘吉井芋’を供試した。10月24日に農業研究開発センター内圃場で採取した葉柄を5mm角程度に切り取り, ペトリ皿上で核抽出液(Quantum Stain NA UV 2 A 液)0.4mlを加え細断した。得られた懸濁液を1分間放置した後, CellTrics[®]フィルター(30μm)で濾過した。濾過した懸濁液にDAPI染色液(Quantum Stain NA UV 2 B 液)1.6mlを加え, さらに30秒間放置した後, フローサイトメーター((株)サイトテックス, Cyflow SL/UV)で測定した(Gain : 416, Speed : 1.0 μL・sec⁻¹)。

実験4 物性と官能評価

物性の調査は, 2008年11月に収穫・保存した芋を用いて, 2009年2月17日に実施した。重量比4倍量の沸騰した水道水で25分間煮沸後, 直ちにステンレス製のざるに取り上げ室温(20℃)で自然冷却した。手で剥皮後, 通風乾燥機を用いて80℃で乾燥させ, 乾燥前後の重量から水分含有率を算出した。また, 硬度は, 径5mmの円筒形プランジャーを装着したデジタルフォースゲージ((株)イマダ)を用いて, 芋を赤道方向に切断した切断面に垂直に貫入させたときの最大値を求めた。

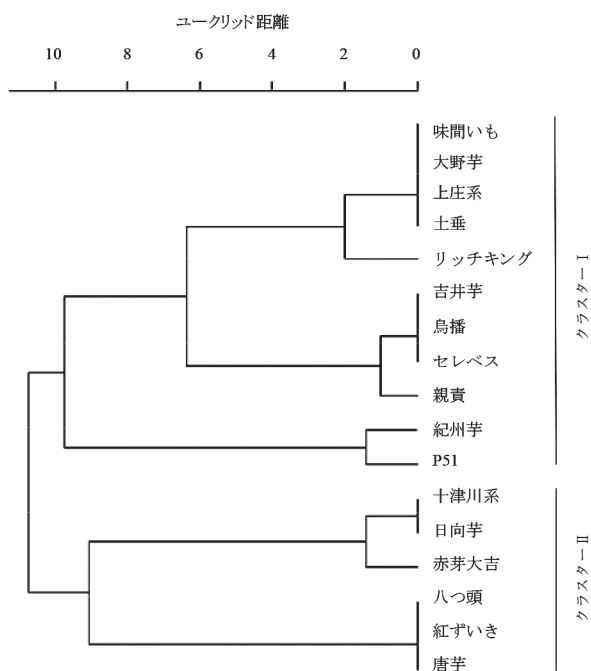
官能評価は, 2008年11月に収穫・保存した芋を用いて, 2009年2月24日に実施した。試料は, 物性の測定時と同様に調製した。粘りと硬さに対する食感について, ‘土垂’, ‘リッチキング’, ‘P51’, ‘紀州芋’, ‘日向芋’, ‘吉井芋’および ‘親責’を ‘味間いも’と比較して評価した。粘りは「非常に弱い」を-3, 「非常に強い」を3として, 硬さは「非常に柔

らかい」を-3, 「非常に硬い」を3として, また, いずれの官能評価項目においても「同じ」を0として, 7段階の評点法で評価した. 官能評価は, 官能評価の経験豊富な農業総合センター職員, 男性8人と女性4人が行った.

結果

実験1 AFLP法によるサトイモ17品種・系統の分類

AFLP法で得られた多型のクラスター分析に基づく樹形図を第1図に示した. なお, 品種・系統の順番はAFLPのグループと一致させた. AFLP法による分類では, 「味間いも」, 「大野芋」, 「上庄系」, 「土垂」, 「リッチキング」, 「吉井芋」, 「烏播」, 「セレベス」, 「親責」, 「紀州芋」および「P51」が属するクラスターIと, 「十津川系」, 「日向芋」, 「赤芽大吉」, 「八つ頭」, 「紅ずいき」および「唐芋」が属するクラスターIIに分かれた. ①「味間いも」, 「大野芋」, 「上庄系」および「土垂」, ②「吉井芋」, 「烏播」および「セレベス」, ③「十津川系」と「日向芋」, ④「八つ頭」, 「紅ずいき」および「唐芋」では, ①から④のグループ内において解析した221のアレルすべてで差は無かった. 「リッチキング」, 「親責」, 「赤芽大吉」はそれぞれ①, ②, ③のグループと, また, 「紀州芋」と「P51」が, 遺伝的距離が近いと推定された.



第1図 AFLP法によるサトイモの分類
Fig 1. Grouping of taro varieties by AFLP

実験2 表現型の調査

葉柄の色は, 「味間いも」, 「大野芋」, 「上庄系」, 「土垂」, 「リッチキング」, 「紀州芋」, 「P51」および「十津川系」が緑色, 「烏播」, 「セレベス」, 「親責」および「吉井芋」が黒褐色, 「赤目大吉」と「日向芋」が緑色から赤紫色, 「唐芋」, 「紅ずいき」および「八つ頭」が赤紫色であった(第2表). 襟かけの色は, 「味間いも」, 「大野芋」, 「上庄系」, 「土垂」, 「リッチキング」, 「紀州芋」, 「P51」および「赤芽大吉」が緑色, 「烏播」, 「親責」および「セレベス」が黒褐色, 「吉井芋」が緑色から黒褐色, 「唐芋」と「八つ頭」が赤紫色, 「十津川系」, 「紅ずいき」および「日向芋」が緑色から赤紫色であった. 葉柄頭部のアントシアニン着色は, 「味間いも」, 「上庄系」, 「リッチキング」, 「吉井芋」, 「紀州芋」および「P51」が「中」, 「大野芋」, 「親責」および「セレベス」が「やや淡」, 「烏播」, 「唐芋」および「十津川系」が「やや濃」, 「赤芽大吉」, 「土垂」, 「日向芋」, 「紅ずいき」および「八つ頭」が「濃」であった. 葉脈(裏)のアントシアニン着色は, 「味間いも」を含めたクラスターIに属する品種・系統は「無」, 「十津川系」が「極淡」, 「八つ頭」が「淡」, 「赤芽大吉」, 「唐芋」, 「日向芋」および「紅ずいき」が「やや淡」であった. 「上庄系」, 「リッチキング」, 「紀州芋」および「P51」は, 各調査項目において「味間いも」と差が見られなかった.

第2表 サトイモ品種・系統の葉柄色およびアントシアニン着色

Table 2. Petiole color and anthocyan coloring of taro varieties

品種・系統	色		アントシアニン着色 ²	
	葉柄	襟かけ	葉柄頭部	葉脈(裏)
味間いも ¹⁾	緑	緑	中	無
大野芋	緑	緑	やや淡	無
上庄系	緑	緑	中	無
土垂	緑	緑	濃	無
リッチキング	緑	緑	中	無
吉井芋	黒褐	緑~黒褐	中	無
烏播	黒褐	黒褐	やや濃	無
セレベス	黒褐	黒褐	やや淡	無
親責	黒褐	黒褐	やや淡	無
紀州芋	緑	緑	中	無
P51	緑	緑	中	無
十津川系	緑	緑~赤紫	やや濃	極淡
日向芋	緑~赤紫	緑~赤紫	濃	やや淡
赤芽大吉	緑~赤紫	緑	濃	やや淡
八つ頭	赤紫	赤紫	濃	淡
紅ずいき	赤紫	緑~赤紫	濃	やや淡
唐芋	赤紫	赤紫	やや濃	やや淡

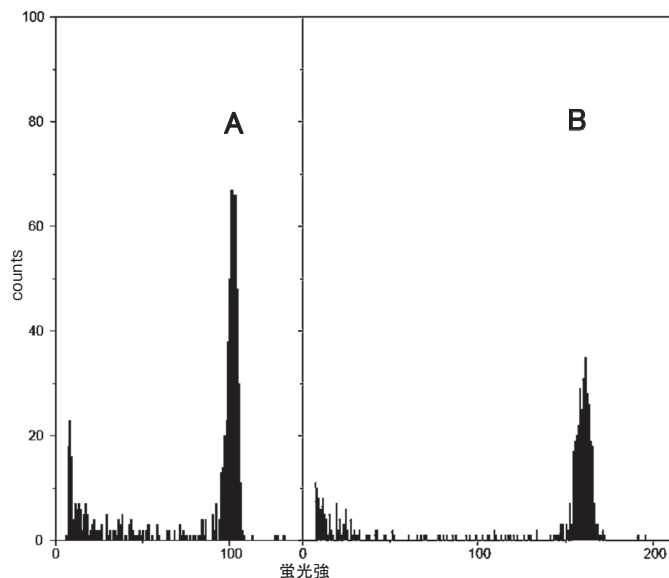
¹⁾無、極淡、淡、やや淡、中、やや濃、濃、極濃で評価

²⁾2006年7月31日に農業総合センター圃場で調査

n=3~6

実験3 倍数性調査

‘紅ずいき’, ‘唐芋’ および ‘八つ頭’ は 2 倍体 ($2n=2x=28$), ‘味間いも’, ‘セレベス’, ‘土垂’, ‘上庄系’, ‘大野芋’, ‘親責’, ‘P51’, ‘リッチキング’ および ‘吉井芋’ は 3 倍体 ($2n=3x=42$) と推定された (第2図, 第3表).



第2図 フローサイトメーターによる核DNA相対量のヒストグラム
A:2倍体の‘八つ頭’ B:3倍体の‘土垂’

Fig 2. Flow-cytometrical histograms showing diploid ‘Yatsugasira’ (A) and triploid ‘Dotare’ (B)

第3表 サトイモ品種・系統の倍数性

Table 3. Ploidy of taro varieties

品種・系統	推定倍数性
味間いも	3
大野芋	3
上庄系	3
土垂	3
リッチキング	3
吉井芋	3
烏播	3
セレベス	3
親責	3
P51	3
八つ頭	2
紅ずいき	2
唐芋	2

実験4 物性と官能評価

硬度は ‘十津川系’ において最も大きく, 次いで ‘上庄系’ で大きく, ‘P51’ で最も小さかった (第4表). 水分含有率は, ‘味間いも’ で最も高く, 次いで ‘親責’, ‘セレベス’, ‘土垂’, ‘リッチキング’, ‘烏播’, ‘吉井芋’, ‘大野芋’, ‘P51’, ‘上庄系’,

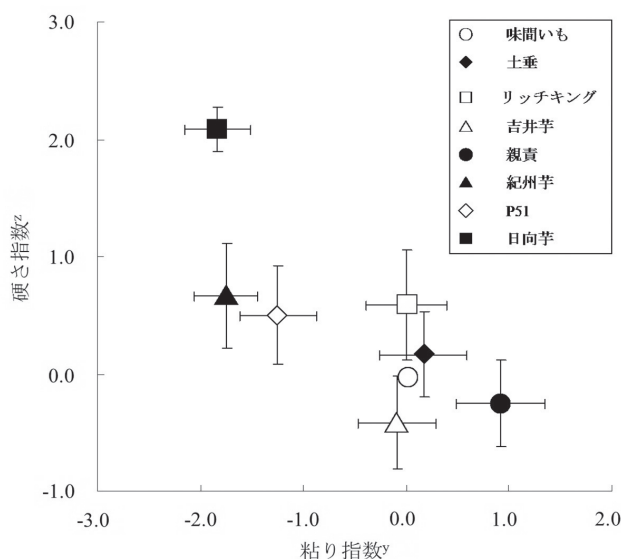
第4表 サトイモ品種・系統の硬度と水分含有率

Table 4. Firmness and moisture content of taro varieties

品種・系統	硬度 ^z (gf)	水分含有率 (%)
味間いも	252 ± 32	80.1 ± 1.0
大野芋	281 ± 21	76.5 ± 0.9
上庄系	396 ± 12	75.2 ± 0.7
土垂	264 ± 25	79.0 ± 0.9
リッチキング	300 ± 18	78.5 ± 0.6
吉井芋	236 ± 19	78.0 ± 0.5
烏播	160 ± 11	78.4 ± 1.1
セレベス	146 ± 14	79.2 ± 0.8
親責	160 ± 26	79.3 ± 0.7
紀州芋	229 ± 23	74.4 ± 0.4
P51	135 ± 15	75.8 ± 2.9
十津川系	445 ± 28	71.5 ± 1.5
日向芋	391 ± 19	67.7 ± 1.3
赤芽大吉	255 ± 16	73.2 ± 1.5
紅ずいき	324 ± 18	71.5 ± 0.5
唐芋	282 ± 17	71.8 ± 1.8

n=6~10

^z 径5mmのブランジャーによる貫入抵抗値



第3図 サトイモ品種・系統の官能評価

Fig 3. Sensory evaluation of taro varieties

図中の縦線、横線は標準誤差 (n=12)

^z 味間いもと比較して, -3:非常に柔らかい, -2:かなり柔らかい, -1:やや柔らかい, 0:同じ, 1:やや硬い, 2:かなり硬い, 3:非常に硬い
^y 味間いもと比較して, -3:非常に弱い, -2:かなり弱い, -1:やや弱い, 0:同じ, 1:やや強い, 2:かなり強い, 3:非常に強い

‘紀州芋’，‘赤芽大吉’，‘唐芋’，‘紅ずいき’，‘十津川系’の順で高く，‘日向芋’で最も低かった。硬度と水分含有率の間には有意な負の相関が認められた (Spearman の順位相関係数 = -0.6 , $p < 0.05$)。

官能調査における粘りは，‘味間いも’と比較して，‘親責’が強く，‘P51’，‘紀州芋’および‘日向芋’が弱く，‘土垂’，‘リッチキング’および‘吉井芋’が同じと評価された (第 3 図)。また，硬さは，‘味間いも’と比較して，‘リッチキング’，‘P51’，‘紀州芋’および‘日向芋’が硬く，‘土垂’，‘吉井芋’および‘親責’が同じと評価された。粘りの評価指数と硬さの評価指数の間には負の相関が認められた (Spearman の順位相関係数 = -0.651)。

考察

熊沢ら⁵⁾の分類によると，えぐ芋群は *var. typica* に，石川早生群，土垂群および黒軸群は *var. globulifera* に，赤芽群，唐芋供群および八つ頭群は *var. esculenta* に属するとされている。本研究において供試した 17 品種・系統は，AFLP 法によるアレル解析によって大きく 2 つのクラスターに分類された。倍数性の推定に供した品種・系統は，推定された倍数性と矛盾せずに，2 つのクラスター内に分類された。‘紀州芋’は，熊沢ら⁵⁾の分類によると 3 倍体であるえぐ芋群に属するとされており，えぐ芋の変異系統である‘P51’と最も近縁であることから，3 倍体の可能性がある。サトイモは子芋用品種と赤芽群は 3 倍体，赤芽群を除く親芋用品種 (親子兼用を含む) と葉柄用品種は 2 倍体とされており⁵⁾，親子兼用品種とされている‘日向芋’⁹⁾は赤芽群に属する，もしくは 2 倍体である可能性がある。一方，奈良県の在来品種である‘味間いも’は，‘大野芋’，‘上庄系’および‘土垂’と極めて近縁であると判定され，‘上庄系’と近縁とする西本ら¹¹⁾の結果と一致した。昭和初期に奈良県磯城郡田原本町味間の生産者が奈良県農事試験場 (現在，農業研究開発センター) から譲り受け，現在まで維持したとされる‘味間いも’と，由来が明確でなく‘親責’あるいは土垂系であるとも言われている福井県大野市の在来種⁶⁾は，‘土垂’の芽条変異⁴⁾によって生まれた品種・系統である可能性がある。

西本ら¹¹⁾は，襟かけの色が AFLP の結果を特に支持したと報告しており，今回の試験でもおおむね一致した。また，熊沢ら⁵⁾の分類では，‘セレベス’と

‘大野芋’は赤芽群に属するとされているが，両品種とも同じく赤芽群とされる‘赤芽大吉’とは遺伝的距離が離れていた。両品種の襟かけの色はそれぞれ黒褐色，緑色であり，黒紫色と報告されている赤芽群の襟かけの色と異なっていたことから，本試験に供した‘セレベス’と‘大野芋’は熊沢らが分類するものと異なると考えられた。

水分含有率は，クラスター II に属する品種・系統と比較して，クラスター I に属する品種・系統において，高い傾向が認められた。このことは，水煮した芋の粘りに対する食感と水分含有率に正の相関がある¹²⁾とされることから，石川早生群，土垂群および黒軸群が粘質であり，えぐ芋群，赤芽群，唐芋群および八つ頭群は粉質であるとする芋の肉質に関する熊沢ら⁵⁾の分類と符合する。また，本試験では，7 品種・系統を調査対象とした西本ら¹²⁾の調査結果と同様に，品種・系統数を 17 と多くした物性調査において硬度と水分含有率の間で高い負の相関を認め，西本ら¹²⁾が調査対象としなかった 6 品種・系統を‘味間いも’と比較した官能評価において粘りと硬さに対する食感の間で高い負の相関を認めたことから，かなり多くの品種において，水分含有率を計測することで，粘りや硬さに対する食感を推定できると推察される。

‘味間いも’の粘りと硬さの食感は，AFLP 法において差が見られなかった‘土垂’と遺伝的距離が比較的近いと推定された‘吉井芋’に近かった。‘味間いも’と遺伝的距離が遠いと推定される‘P51’，‘紀州芋’および‘日向芋’は，芋の物性においても大きな違いが認められた。これらのことから，AFLP 法による分類は，同一品種群内では多少の量的変異が存在するだけで基本的形質は共通であるとする熊沢ら⁵⁾の分類を支持していると考えられる。

本試験による分類は熊沢らの分類と大きく矛盾するところはなく，AFLP 法による分類は環境要因による影響を受けずに品種群を推定する手法として有効であると考えられた。

摘要

‘味間いも’を含むサトイモ 17 品種・系統について AFLP 法による分類を行った。サトイモ 17 品種・系統は大きく 2 つのクラスターに分かれ，‘味間いも’は，‘大野芋’，‘上庄系’，‘土垂’と遺伝的に近

縁であった。‘味間いも’を含むクラスターⅠに属する芋の水分含有率は、クラスターⅡと比較して、高い傾向を示し、水分含有率と芋の硬度の間には高い負の相関が認められた。‘味間いも’と遺伝的距離が遠いと推定される‘P51’、‘紀州芋’および‘日向芋’は、芋の物性においても‘味間いも’と大きな違いが認められた。

謝辞

サトイモの種芋を提供していただきました京都大学名誉教授 矢澤 進氏、福井県立大学名誉教授 大城 閑氏、埼玉県さいたま農林振興センター普及部長 (2005年当時) 大嶋善一氏、奈良県平群町の東 光洋氏、奈良県田原本町の木村 衛氏、豊岡市の西途謹吾氏、AFLP法に関する助言をいただきました奈良先端科学技術大学院大学の加藤 彰氏、故 二宮由佳氏に感謝申し上げます。

引用文献

1. 独立行政法人農畜産業振興機構. “月報 野菜情報-今月の野菜-さといも-2017年1月”. <https://vegetable.alic.go.jp/yasaijoho/yasai/1701/yasai1.html>, (2017.10.1 閲覧).
2. Hirai, M., T. Sato and K. Takayanagi. 1989. Classification of Japanese cultivars of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) based on electrophoretic pattern of the tuber proteins and morphological characters. Japan. J. Breed. 39: 307-317.
3. Kanda, Y. 2013. Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZR’ for medical statistics. Bone Marrow Transplantation. 48: 452-458.
4. 熊沢三郎・本多藤雄. 1954. 里芋に於ける芽條変異と品種造成に対する考察. 育種学雑誌. 3: 19-21.
5. 熊沢三郎・二井内清之・本多藤雄. 1956. 本邦における里芋の品種分類. 園学雑. 25: 1-10.
6. 河野通佳・栗波 哲. 1992. サトイモ塊茎の可溶性糖類およびヒドキシプロリンの含量とその変動要因. 土肥誌. 63: 296-303.
7. 森田隆史・片岡圭子・河瀬晃四郎. 1999. 球茎間の分離が容易なサトイモ変異系統を用いた調製作業の省力化. 農作業研究. 34: 211-215.
8. 中村典義・一色史郎・張東暁・田代洋丞・宮崎貞巳. 1995. アイソザイム分析による日本産サトイモ (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) の品種分類. 園学雑 64 別 2: 270-271.
9. 奈良県南部農林振興事務所. “五條吉野地域で栽培される「いも」”. 奈良県公式ホームページ. <http://www.pref.nara.jp/7674.htm>, (2017.8.21 閲覧).
10. 奈良県農林部農業水産振興課園芸特産係. 2014. 「味間いも」「黒滝白きゅうり」が大和野菜に仲間入り. 報道資料.
11. 西本登志・加藤 彰・二宮由佳・後藤公美・木矢博之・米田祥二・矢奥泰章. 2007. 県内在来系統を含むサトイモ品種・系統の類縁関係. 園学研. 6 (別 2) : 506.
12. 西本登志・信岡 尚・矢奥泰章・黒住 徹・山本高穂・濱崎貞広・前川寛之・米田祥二・後藤公美. 2007. サトイモ球茎の粘りと硬さの品種・系統間並びに剥皮方法による差. 近畿中国四国農研. 10: 10-15.
13. Tanimoto, T. and T. Matsumoto. 1986. Variations of morphological characters and isozyme patterns in Japanese cultivars *Colocasia esculenta* Schott and *C. gigantea* Hook. Japan. J. Breed. 36: 100-111.