



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ナガイモのさく果、種子および胚の生長過程と胚培養の可能性 : ヤマイモ属 (Dioscorea) の性状に関する基礎的研究 第V報
Author(s)	荒木, 肇; ARAKI, Hajime; 原田, 隆 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 15(2), 133-139
Issue Date	1987-01-20
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/12057">https://hdl.handle.net/2115/12057</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	15(2)_p133-139.pdf



# ナガイモのさく果、種子および胚の生長過程と胚培養の可能性

——ヤマノイモ属 (*Dioscorea*) の性状に関する基礎的研究 第 V 報——

荒木 肇・原田 隆・八 鍬 利 郎

(北海道大学農学部果樹蔬菜園芸学教室)

(昭和 61 年 4 月 30 日受理)

## Development of Capsul, Seed and Embryo of *Dioscorea opposita* cv. Nagaimo and Possibility of Embryo Culture

Studies on the botanical characteristics of genus *Dioscorea*. V

Hajime ARAKI, Takashi HARADA

and Toshiro YAKUWA

(Laboratory of Horticulture, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo 060, Japan)

### 緒 論

ナガイモやヤマトイモなどのヤマノイモ属栽培種ではこれまで選抜によって新品種，系統を育成してきた<sup>5),6),7)</sup>。しかし，雄株のみが栽培されていたナガイモ (*Dioscorea opposita* Thunb.) において雌株が発見された<sup>13)</sup> ことや，ジネンジヨ × ナガイモの交雑でも実生を育成できることが立証された<sup>2)</sup> ことにより，交雑育種の可能性が注目されるに至った。この方法によると，芋の形状や品質における変異を拡大させ，そこから優良な個体を選抜することができるので，画期的な品種改良も期待できる。しかし，種子形成についての筆者らのこれまでの観察によると，ナガイモは一般に自然条件下では種子不稔のことが多く，人工交配で果実を着生させても，得られた種子が未熟なため発芽しない場合が多かった<sup>14)</sup>。したがって，交雑育種を進めるためには，できる限り成熟種子を形成させるとともに，未熟種子からも可能な限り実生を得ることが望ましい。筆者らは 1981 年および 1982 年に，ナガイモのさく果，種子および胚の発育過程を調査するとともに，未熟胚についても胚培養を用いて実生を育成する可能性について検討したので報告する。

### 材料および方法

材料は北海道大学農学部附属農場に栽植してあるナガイモを用いた。1981 年 8 月 1 日にナガイモの雌雄間で人

工交配を行い，その後 10 日ごとに 10 個のさく果を採取し，さく果と種子の大きさを測定した (Fig. 1)。得られた種子を FAA で固定し，アルコール，ブタノール系列で脱水，透徹した後，10  $\mu$ m の厚さのパラフィン切片を作製した。そして，マイヤーの酸性ヘマラウンで染色して，胚の形態を観察するとともにその大きさを測定した。1982 年には，胚培養を行うため，自然および人工交配し，さく果が登熟した後，種子を取り出し，さく果径と種子径を調査してから胚培養に供した。得られた種子を吸水させたろ紙上に置床し，25°C 条件下で 2 日間放置して，種皮をやわらかくしてから，70% アルコールに 30 秒，1% アンチホルミンに 10 分間浸漬して殺菌した。殺菌した種子を解剖顕微鏡下で無菌的に解剖し，胚の大

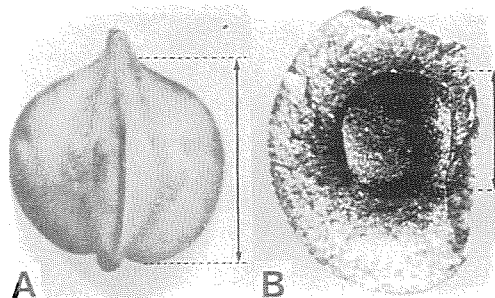


Fig. 1. Illustration of representing sizes of a capsul (A) and a seed (B).

きさ、形状と胚乳の状態を調査した後、それぞれの大きさの胚を、MS培地を基本として、しょ糖2%、寒天0.7%を添加した固形培地に置床し、25°C、3,000 lx、16時間日長下で培養した。培養2か月後に各々の胚の発育状況を調査し、培養した胚の発育と置床時の胚径との関係を求めた。

## 結 果

### 1. さく果の発育過程

さく果内の種子の存在の有無により、さく果の発育に差異が認められた。内部に正常な種子を形成したさく果では授粉後まもなく5~6 mmに肥大し、10~20日にかけて急速に生長して、30日目で平均14 mmとなり、ほぼ最大径に達した。生重についても20日目に最大に近くなり、40日目以降は乾燥により低下した。また、さく果の色は授粉後60~70日後でも黄変せず、緑または黄

緑色を呈していた。内部に1個の種子も形成しなかったさく果は、授粉後10日目までは正常な種子を形成したさく果同様に肥大し、20日目にかけては急速に肥大するものの、その程度は正常な種子を形成したさく果に劣り、平均で約1.5 mm小さかった (Fig. 2)。しかし、さく果径の変異は大きく、中には種子を形成したさく果と同程度の大きさのものも存在した。さく果の色は授粉後60日ごろから黄変した。

### 2. 種子の発育過程

多くの種子は発育できずに1~2 mmの径にとどまったが、正常に発育した種子は授粉後20日ごろより急速に生長し、70~80日で4~5 mmの大きさに達した (Fig. 3)。ほぼ正常に発育したと考えられる3 mm以上の種子は1個の例外を除く他はすべて径13 mm以上のさく果内に存在した。しかし、13 mm以上のさく果であっても、3 mm未満の未熟種子を含んでいたり、全く種子を

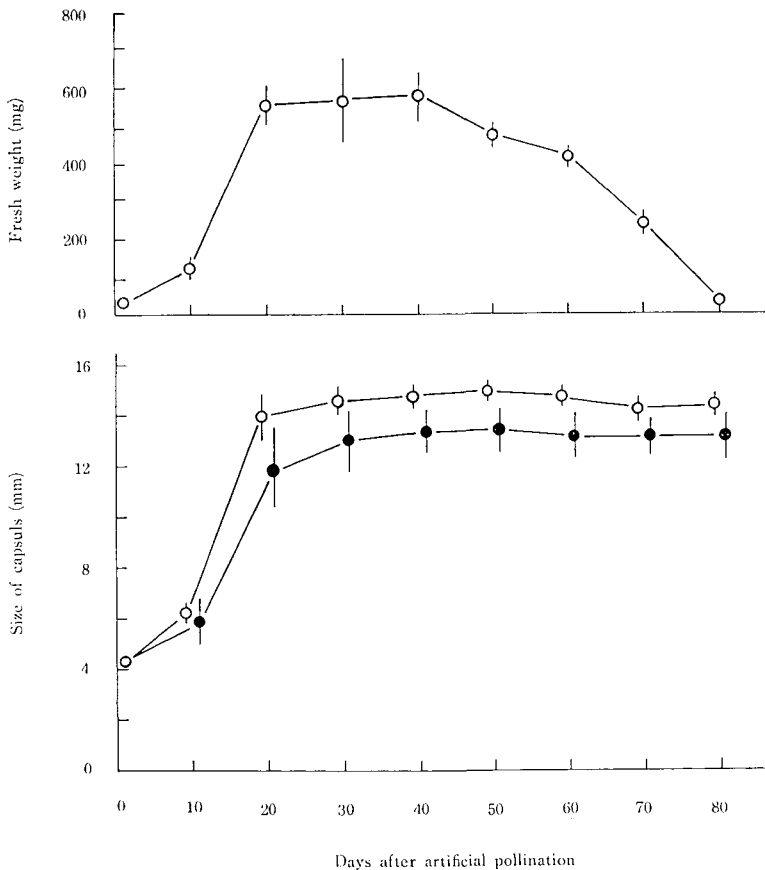


Fig. 2. Time course of change in development of capsuls.

○ stands for capsuls with seeds more than 3 mm long and ● for without a seed. Vertical bars indicate confidence limits at 95% level.

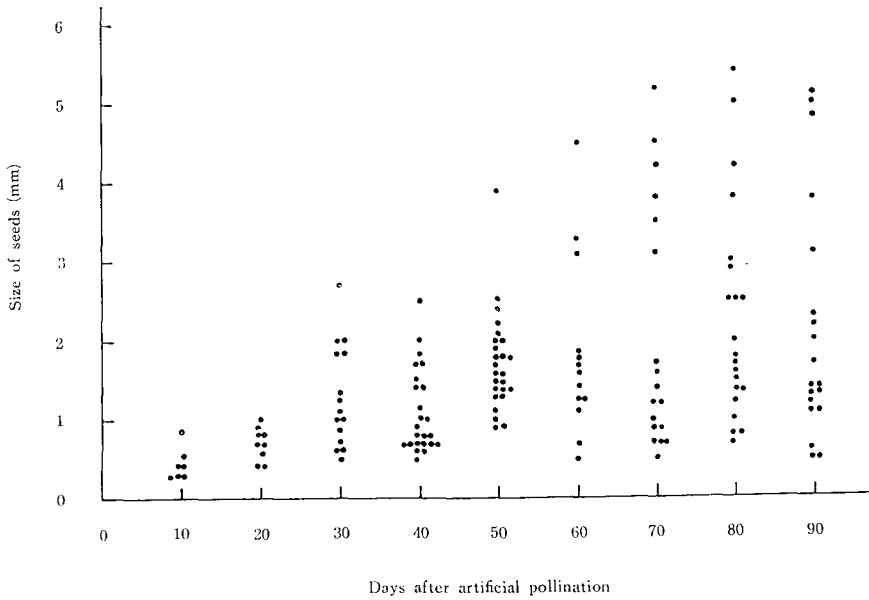


Fig. 3. Distribution of individual size of seeds at various times after artificial pollination.

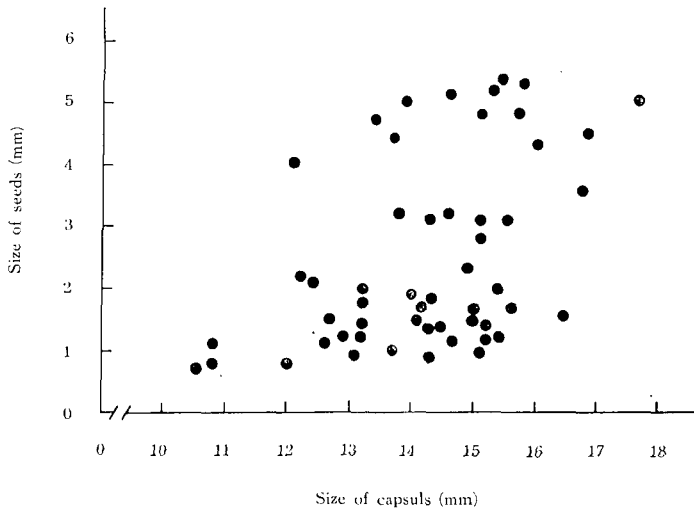


Fig. 4. Relationship between the sizes of capsules and seeds.

含んでいない場合も多かった (Fig. 4)。

### 3. 胚の発育

1981年には、3 mm未満の種子で0.1~0.3 mmまで発育した胚が若干存在したが、ほとんどの種子内には胚は存在しなかった。3 mm以上の種子では0.2~0.3 mmの胚が存在するようになり、特に4 mm以上の種子内には0.5 mm, 0.7 mmに発育した胚も存在した (Fig. 5)。1982年に得られた2.0 mm以上の種子の調査においても、種

子径3 mm未満では胚含有率は20%で、胚径も0.1~0.3 mmであったが、径3 mm以上4 mm未満の種子では胚含有率は61.1%、径4 mm以上の種子では90%と飛躍的に高まり、径3 mm以上の種子では0.5~0.8 mmに発育した胚が多くなった (Table 1)。

正常に発育した場合の胚の発育過程を Fig. 6 に示した。胚は種子のへそ側、すなわち、さく果の中心側に位置した (Fig. 6-B)。そして0.4 mmまでは球状で (Fig. 6

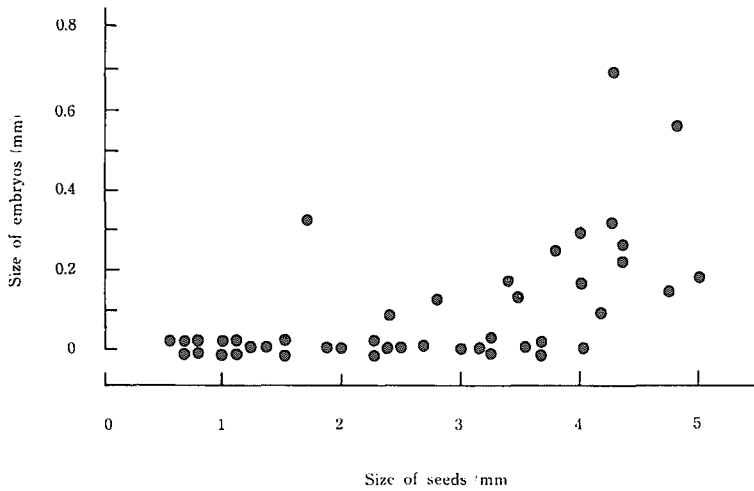


Fig. 5. Relationship between the sizes of seeds and embryos from result in 1981.

Table 1. Ratio of seeds with an embryo and number of embryos with various sizes in survey in terms of seed sizes. (1982)

Seed size (mm)	Number of tested seed	Seeds with an embryo		Number of embryos classified by sizes							
		Number	(%)	Embryo size (mm)							
				0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8
2.0—2.9	25	5	(20)	3	1	0	0	1	0	0	0
3.0—3.9	26	16	(61)	0	4	1	0	3	3	4	1
4.0—	20	18	(90)	0	1	2	1	3	4	2	5

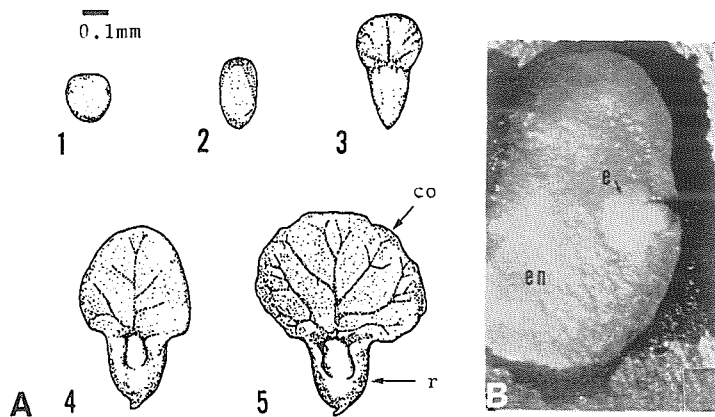


Fig. 6. Illustration of embryonic development (A) and appearance of an embryo (B).

co: cotyledon r: radicle e: embryo en: endosperm

**Table 2.** Observation on embryos, endosperms and seeds of *D. opposita* cv. Nagaimo

Size of embryos obtained (mm)	Characteristics of interior/exterior of seeds							
	Embryo		Endosperm			Seed		
	Color	Figure	Color	Location	State	Color	Size (mm)	Thickness
<0.4	Semitransparent White	Globular	White	Around embryo or all around in the seed	Liquid	Dark brown		Undistinguishable from a wing part
0.4-0.6	White	With a radicle differentiated	White	All around in the seed	Liquid, semisolid or solid	Dark brown		Possibly distinguishable from a wing part
>0.6	White	Radicle and cotyledon differentiation	White	All around in the seed	Solid	Ocher yellow	>3 mm	>0.5 mm

**Table 3.** Influence of sizes on development of embryos cultured *in vitro*

Embryo size (mm)	Number of cultured embryos	Number of died embryos	Number of survived embryos		
			forming callus	rooting	developed into seedling
- 0.2	8	8	0	0	0
- 0.4	4	4	0	0	0
- 0.6	14	8	1	2	3
- 0.8	12	5	0	1	6
Total	38	25	1	3	9

A-1, 2), 0.5~0.6 mm で幼根が識別できるようになり (A-3), 0.7~0.8 mm で子葉が明瞭になって，最大 1 mm まで発育した (A-4, 5)。

1982年に採取した種子内の胚の発育程度と胚乳や種子の性状との関連性について Table 2 に示した。径 0.4 mm 以下の胚は半透明状の白色の幼胚であり，胚乳は多くが胚の周辺部に薄い灰色の液状となって存在した。まれに，種子内全体に分布するものもあった。このような胚や胚乳を含有する種子は褐色で，翼部と種子部との区別ができなかった。0.5~0.6 mm の胚は白色で，胚乳も白色で種子内全体に分布し，その性状は液状，半固形状および固形状のものがあつた，種子の色も黄土色と褐色のものが存在した。一方，0.7 mm 以上に発育した胚は白色で，胚乳も白色，固形状で種子内全体に分布した。このような胚と胚乳を有する種子はすべて径 3 mm 以上，厚さ 0.5 mm 以上あり，黄土色を呈し，翼部と種

子部が区別できる完熟種子の形状であつた。

#### 4. 胚の発育度と胚培養における成功率

胚培養における胚の発育を観察すると，(1) 発育せずに枯死する (2) カルス化する (3) 根のみ伸長する (4) 根と茎葉を発育させて実生となる，の 4 つの型が認められた。置床した幼胚の大きさと培養後の発育については Table 3 に示したとおりである。すなわち，0.4 mm 以下の幼胚はすべて枯死したが，0.5~0.6 mm の幼胚は 14 個のうち 3 個が実生となり，2 個が幼根を伸ばし，1 個がカルス化した，しかし，根を伸ばした個体では地上部は発育せず，カルスも 2 か月後に褐変し，実生には発育しなかった。0.7~0.8 mm の幼胚では 12 個のうち 6 個が実生に発育し，実生になる確率も高まった。実生に発育した個体は 2~3 か月すると茎葉部と根部の付着部に小さな芋を形成した。また，葉腋部にムカゴを形成する個体も認められた (Fig. 7)。

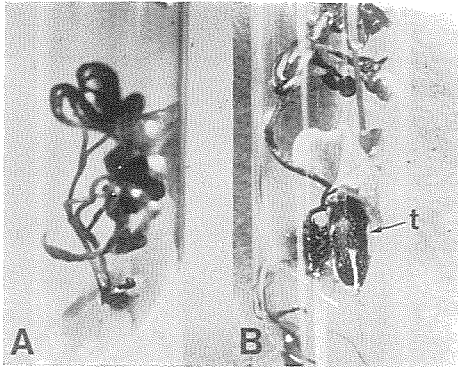


Fig. 7. Plants developed from embryos cultured *in vitro*.

A. Root and aerial part after 1 month of culture.  
B. Tuber formation after 6 months of culture.

t: tuber

### 考 察

ナガイモの実生育成における胚培養の長所は、他の作物と同様に<sup>1),4),8)</sup>、未熟胚からでも実生を育成できることであることは言うまでもない。この意味において、本報ではナガイモのさく果、種子、胚の生長や発育の関連性を観察するとともに、胚培養により実生を得ることが可能な胚の発育限度を求めた。

まず、さく果の発育についてみると、全体として、種子を含むさく果が大きい傾向が認められたことから、他の植物同様に、さく果の肥大には種子の影響が大きいといえる<sup>3),9)</sup>。しかし、さく果が大きくなっても必ずしも完熟種子が含まれているとは限らないので、その点についても十分に考慮する必要がある。

つぎに、胚に関してみると、その発育過程は形態的に他のヤマノイモ属野生種と同様であった<sup>10),11),12)</sup>。すなわち、0.7 mm 以上の幼胚は子葉や幼根が分化しており、胚培養を行なうと高い確率で実生を育成することができた。そして、このような胚を有する種子は径が3 mm 以上で、厚みがあり、胚乳も充実していた。10月になっても褐変せず緑色や黄緑色を呈しているさく果には上に述べたような3 mm 以上の種子が含まれていた。幼根のみを分化している径0.5~0.6 mm の幼胚では、胚培養で実生を育成できたものは約20%であった。また、球状胚では胚培養をおこなっても、実生にまで発育しなかった。本実験で胚培養に用いた胚は10月下旬に採種した種子から採取したものであったが、胚や胚乳の発育停止が起こったのはかなり早い時期であったものと考えられ、10月に採取した時点では胚の活性が消失していたも

のと推測される。胚培養の成功率を左右する要因の一つは胚摘出の時期であり、早期に摘出すれば、球状胚に近いものでも実生にまで発育させ得たかもしれない。アブラナ科では通常、心臓型前後の胚を培養して交雑実生を得ており<sup>8)</sup>、カンキツでは、カゼイン加水分解物を用いると前胚や球状胚でも培養可能であるとの報告がある<sup>4)</sup>。ナガイモの場合、胚形成までに至る種子が少ないために、胚の発育停止時期を確認するのはむずかしく、本実験ではさく果が登熟するまで胚を発育させたが、今後、胚培養の時期についても検討する予定である。

なお、ナガイモの種子はかなり長期間の休眠を有し、休眠打破や高い発芽率を得るための条件が充分解明されていないが、胚培養を行なうと幼胚のみならず、休眠中の完熟胚も容易に発育し、実生を得ることが可能であった。このことから、ナガイモ種子の休眠は胚以外の要因によるものであることが立証されたほか、完熟種子であっても、胚培養を行なうことにより実生を得ることがかなり早められ、育種に役立つことも明かとなった。

1981年と1982年における胚発育には差異が認められ、8~9月にかけて温暖に推移した1982年の方が胚発育が良好であった。受精後30~50日ごろに種子が急速に生長することも考えあわせると、受精後の胚発育には8~9月期に温暖な気候で推移することが重要であるといえる。

今後、胚培養技術を応用して、種々の交雑実生を育成する予定である。

### 摘 要

ナガイモ (*Dioscorea opposita* Thunb.) のさく果は正常に発育すると授粉後10~30日にかけて、花粉の刺激により急速に肥大し、30日で最大に達した。種子は授粉後30日から肥大しはじめ、70日で径4~5 mm の正常の大きさに達した。径13 mm 以上に発育したさく果には3 mm 以上の種子が内在する可能性があった。種子が大きくなるに従い、発育した胚が存在するようになった。0.4 mm 以下の胚は球状であるが、0.5~0.6 mm の胚は幼根を分化し、0.7 mm 以上では幼根と子葉を分化していた。幼根と子葉を有する種子はすべて径3 mm 以上に発育しており、厚みもあって完熟種子と認められた。子葉と幼根を分化させた胚は胚培養で容易に実生となった。幼根のみを分化した0.5~0.6 mm の幼胚の約20%は胚培養で実生にまで発育したが、0.4 mm 以下の球状胚からは実生は育成できなかった。

## 引用文献

1. ASANO, Y. and MYODO, H.: Studies on the crosses between distantly related species of Lilies. 2. The culture of immature hybrids embryos. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* **46**: 267-273. 1977
2. ARAKI, H., HARADA, T. and YAKUWA, T.: Some characteristics of interspecific hybrids between *Dioscorea japonica* Thunb. and *Dioscorea opposita* Thunb. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* **52**: 153-158. 1983
3. DERWSSEY, W. H. and BONYTON, J. E.: Effect of seed number on tomato fruit size and maturity. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* **86**: 575-581. 1965
4. HORIUCHI, S., YUDA, E. and NAKAGAWA, S.: *In vitro* culture of young embryo in polyembryonic citrus. (1). *J. Japan Soc. Hort. Sci.* **45**: 253-260. 1976
5. KAWAKAMI, K., YAMAKAWA, M., SAKAKI, T. and TAKAYAMA, A.: Variation in tuberous root in Chinese yam plants (*Dioscorea batatas* Dence). *Proc. Crop Sci. Soc. Japan* **23**: 309-310. 1955
6. KAWAKAMI, K. and TAKAYAMA, A.: Studies on the clonal selection of Chinese yam (*Dioscorea batatas* Dence). 3. Breeding history and characteristics of some new varieties. *Jap. J. Breeding* **15**: 38. 1965
7. MIZUNO, S.: Variation on Yamato-kurokawa (*Dioscorea batatas* Dence) by vegetative reproduction. *Proc. Crop Sci. Soc. Japan* **24**: 207-208. 1956
8. NISHI, S., KAWATA, J. and TODA, M.: Studies on the culture in vegetative crops. Part 1. Embryo culture in immature crucifer embryos. *Bull. Nat. Inst. Agr. Series E.* **9**: 59-127. 1961
9. NITSCH, J. P.: Growth and morphogenesis of the strawberry as related to auxin. *Amer. J. Bot.* **37**: 211-215. 1950
10. RAO, A. M.: Embryology of *Dioscorea oppositifolia* L. *Phytomorphology* **3**: 121-126. 1953
11. SADIK, S. and OKEREKE, O. U.: Flowering, pollen grain, fruiting, seed germination and seedling development of white yam, *Dioscorea rotundata* Poir. *Ann. Bot.* **39**: 597-604. 1975
12. SMITH, P. H.: The development of embryo and seedling of *Dioscorea villosa*. *Bull. Torrey Bot. Club.* **43**: 545-558. 1916
13. 八鉄利郎・原田 隆・笠井 登・奥山 功・荒木 肇： ヤマノイモ属 (*Dioscorea*) の性状に関する基礎的研究 (第1報) ながいも雌株に着生した花，果実および種子の構造と発芽過程，北大農邦文紀，**12**: 271-280. 1981
14. YAKUWA, T., HARADA, T., KASAI, N. and ARAKI, H.: Studies on the botanical characteristics of genus *Dioscorea*. 2. On the formation and germination of the seed in Chinese yam (cv. Nagaimo). *J. Fac. Agry. Hokkaido Univ.* **60**: 220-228. 1981

## Summary

Capsule formation of *Dioscorea opposita* cv. Nagaimo was caused by stimulation of pollens, regardless of fertilization. Capsules showed rapid growth 10 to 30 days after artificial pollination. A seed began to grow 30 days after pollination, and became standard size of 4 to 5 mm on the 70th day. A certain number of capsules with size of 13 mm could have seeds more than 3 mm in size. It was recognized that embryos growing to a certain developmental stage were obtained from comparatively large seeds. The embryos less than 0.4 mm long remained globular, while those in 0.5 to 0.6 mm length developed a radicle, and those in more than 0.7 mm length differentiated a cotyledon and a radicle. All of seeds more than 3 mm long, classified into full-ripen ones, had embryos with both a cotyledon and a radicle. Most of the embryos with a cotyledon and a radicle certainly developed into seedlings through *in vitro* culture. About 20% of embryos with a radicle grew into seedlings, whereas no globular embryos less than 0.4 mm long became a seedling.