

## ヤブツルアズキ (*Vigna angularis* var. *nipponensis*) の 成育に及ぼす栽培環境の影響

鯨 幸夫<sup>\*1)</sup>・前野寿有<sup>2)</sup>・山口順司<sup>3)</sup>・寺沢なお子<sup>1)</sup>・木下栄一郎<sup>4)</sup>

(<sup>\*1)</sup>金沢大学地域創造学類, <sup>2)</sup>金沢大学教育学部, <sup>3)</sup>金沢大学大学院自然科学研究科,

<sup>4)</sup>金沢大学環日本海域環境研究センター)

### Effects of Cultural Condition on the Growth in Wild Adzuki Bean (*Vigna angularis* var. *nipponensis*)

Yukio KUJIRA<sup>\*1)</sup>, Sunao MAENO<sup>2)</sup>, Jyunji YAMAGUCHI<sup>3)</sup>, Naoko TERASAWA<sup>1)</sup> and Eiichiro KINOSHITA<sup>4)</sup>

(<sup>\*1)</sup>School of Regional Department Studies, Kanazawa University, 920-1192, Japan,

<sup>2)</sup>Faculty of Education, Kanazawa University,

<sup>3)</sup>Graduate School of Natural Science and Technology, Kanazawa University, 920-1192,

<sup>4)</sup>Institute of Nature and Environment Technology, Kanazawa University, 920-1192)

栽培環境を異にするヤブツルアズキを材料に用いて、土壌硬度や施肥量を変化させた栽培試験を行い栽培品種(大納言)と比較した。土壌硬度を高め3.5kg-NPK/10aの施肥を行うと成育量は増大した。成育地を異にするヤブツルアズキのITS領域およびrbcL領域のDNA解析を行った結果、葉身形状、茎の色等、地上部形態に明らかな差異が認められても遺伝子情報は全く同じであった。種子のポリフェノール含有量は栽培種よりヤブツルアズキの方が高い傾向が認められ、これは種皮比率が高い事が原因と考えられた。

キーワード: ITS領域, rbcL領域, 栽培環境, ポリフェノール含有量, 野生アズキ, ヤブツルアズキ

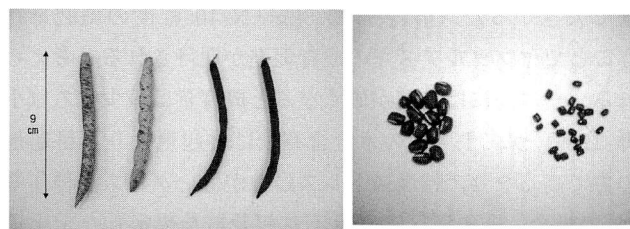
Key words: Cultural condition, ITS, Polyphenol content, rbcL, *Vigna angularis*, Wild adzuki bean

ヤブツルアズキ (*Vigna angularis* var. *nipponensis*) は日本各地に成育し、蔓性で紫色の茎、裂莢性のある黒い莢、直径3~4mm程度の茶褐色に黒斑点の種子という特徴を持つ(第1図)。中国、朝鮮半島または日本で栽培化されたと考えられていたが、ヤブツルアズキの分布域がこれまで考えられていたより広く、日本、朝鮮半島、中国からヒマラヤに至る地域に広く分布している事が明らかになった(Tateishi 1984, Lumpkin and McClary 1994)。ヤブツル

アズキは現在でも日本各地で普通に自生している植物であり、遺跡からも種子が出土している。本試験では、ヤブツルアズキの栽培化を視野に入れて、自生地を異にした個体群および栽培条件を異にした場合の各種成育量について、栽培品種との比較も含めて検討した。また、子実に含まれるポリフェノール含有量の定量も行った。

#### 材料および方法

実験は2010年に、(1)金沢大学角間キャンパス周囲の自然環境下で生育している個体群から採取した種子、(2)津幡町で自然農法により栽培されている個体群から採取した種子、(3)自然環境下で生育している富山県(小矢部市)の個体群から採取した種子、(4)つる性にない個体群(変異株と考えられる/石川県津幡町で自然農法を行っている個体群から採取した種子)、(5)秋田県(湯沢)の自然環境下で生育している個体群から採取した種子、および(6)栽培品種(対照)(大納言、能登大納言)を材料に用いて行った。



第1図 大納言、津幡の莢の長さ種子の形状。  
(左:大納言, 右:ヤブツルアズキ)

## (実験1) 土壌硬度の違いが成育に及ぼす影響

窒素, リン酸, カリをそれぞれ2g/kg含む市販の土壌および無肥料の土壌(土壌水分4.3%)をPCVポット(φ85 mm, 長さ200mm)に充填し, 油圧の加圧機を用いて硬い土壌を調製した。2009年に石川県津幡町で採取した(2)の種子を2010年6月19日に播種(4粒/ポット)した。供試ポットは各試験区とも11個である。試験に先立ちヤブツルアズキの発芽試験を実施した。シャーレに発芽試験用ろ紙(たねピタ:富士平工業(株))を置き, 蒸留水を入れて湿った状態にした。24時間吸水させた種子をろ紙上に50粒置床し, インキュベータ内の温度を21℃に設定して発芽状態を記録した。置床後4日目から発芽が開始し7日目以降の発芽種子数は増えなかった。1週間の発芽率は40%であった。発芽試験の反復は2とした。

試験区は, 1) 軟らかい土壌(ソフト)(土壌硬度1.54 kg/cm<sup>2</sup>:以下同様)・無施肥区, 2) 硬い土壌(ハード)(3.96 kg/cm<sup>2</sup>:以下同様)・無施肥区, 3) 軟らかい土壌・3.5kg-NPK/10a施肥区, 4) 軟らかい土壌・7.0kg-NPK/10a施肥区, 5) 硬い土壌・3.5kg-NPK/10a施肥区とし, 7月28日, 8月25日および9月30日に各種の成育量を調査した。また, 比較対照として慣行栽培を行った大納言についても同様の調査を行った。ヤブツルアズキは成育に伴って蔓が伸長してくるため, 地上部は紐と支柱に巻き付かせて伸長させた。地上部成育として草丈, 葉数および最上位の葉身中央部のSPAD値を調査した。地上部は葉身, 葉柄および茎に区分し, 根系は土壌階層別(0~10cm, 10~20cm)に区分して土を洗い流し, 得られたサンプルを75℃で24時間乾燥させ乾物重を測定した。

## (実験2) DNA解析

ヤブツルアズキを形態の特徴, 採取場所の違いで区分した(1)~(6)を基本として形状を異にする12種類の葉身サンプルを材料に用い, ITS領域(核)とrbcL領域(葉緑体)の塩基配列をダイレクトシーケンスで決定し比較した。秋田のサンプル(5)は, 秋田県仙北市角館白岩でアキノノゲシ, ヨモギ, アメリカセンダングサ, ワラビが優占する比較的乱獲を受けている場所で採取した植物体である。採取した葉身サンプルはDNA抽出までシリカゲルを入れた保存容器内で乾燥保存した。葉身を約5×5mmに切りDNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)を用いてDNAを抽出した。抽出したDNAを鋳型に, PCR法を用いてマニュアルに従い核DNAのITS1-5.8S rRNA-ITS2領域と葉緑体DNAのrbcL領域を増幅した。得られたドライアップサンプルの解析は金沢大学学際科学実験センター遺伝子実験施設に委託し, DNAシーケンサーで塩基配列を決定した。

## (実験3) 種子の抗酸化活性評価

金沢大学角間農場を囲むフェンスに沿った耕地(これまで施肥を行わず自然状態で放置)の11.4m×0.3m範囲を軽く耕起し, 3区画に分割した。実験1と施肥条件が同様になるように土壌条件を整備した。3.5kg-NPK/10aとなるように床土と肥料を混合した土壌, および7kg-NPK/10aとなるように床土と肥料を混合した土壌をそれぞれ25kg入れ, 無肥料区は無施肥のままとした。播種は(2)の種子を用いて6月19日に行い, 自然の状態で管理した。なお, 土壌表面が乾燥したら表面に散水し, 茎の伸長が確認されてから支柱を設置した。ノギスを用いて株元から20cmの高さの茎直径, 1個体から大きいものをランダムに3個採取した莢の長さ, 1莢の粒数および1粒重を調査して莢および種子の量的変異を調査した。またフォリン・チカルト法を用いて種子に含まれるポリフェノール含有量を定量した。ポリフェノール含有量の測定に用いた種子は第3表に示した各種の栽培試験で得られたヤブツルアズキの種子と, 比較対照として栽培した大納言(慣行栽培)および能登大納言(市販品)である。

種子の抗酸化活性は種皮比率に影響される可能性がある事を考慮し, 栽培条件が異なるヤブツルアズキ(3.5kg-NPK/10a施用, 7kg-NPK/10a施用, 秋田のサンプル, 富山のサンプル)と栽培種の種子をそれぞれ10粒ずつ供試し十分に吸水させた後にピンセットと針を用いて種皮と子葉に区分し, 75℃で24時間乾燥後させて乾重を測定して種皮比率を求めた。

## 結果および考察

(実験1) 7月28日(播種後43日)における草丈, SPAD値および根乾重に有意な差は認められなかった(データは示さず)。8月25日(播種後70日)における草丈とSPAD値に有意差は認められなかったが, 葉身乾重/ポット, 葉柄・茎乾重/ポット, 葉数/ポットに有意差が認められ, 土壌ハード・3.5kg-NPK/10a施肥区で最大値を示した。また根系乾重はハード・3.5kg-NPK/10a施肥区で大きい傾向を示し, 最大根長はハード, ソフト区で3.5kg-NPK施肥区で大きかった(第1表)。3.5kg-N/10a程度の施肥を行うことでヤブツルアズキの成育促進が期待されると考えられる。一般的には土壌が硬くなると成育量は減少する(小野 1985)が, 土壌中の水分含有量は耕起地より不耕起地の方で高くなり, 乾燥ストレス耐性が低いダイズ品種作系4号の場合, 非鎮圧区よりも不耕起栽培を想定した土壌鎮圧区で地上部成育, 収量が上がる(島村ら 2006)との報告がある。本試験でも土壌が堅い条件で地上部成育量およ

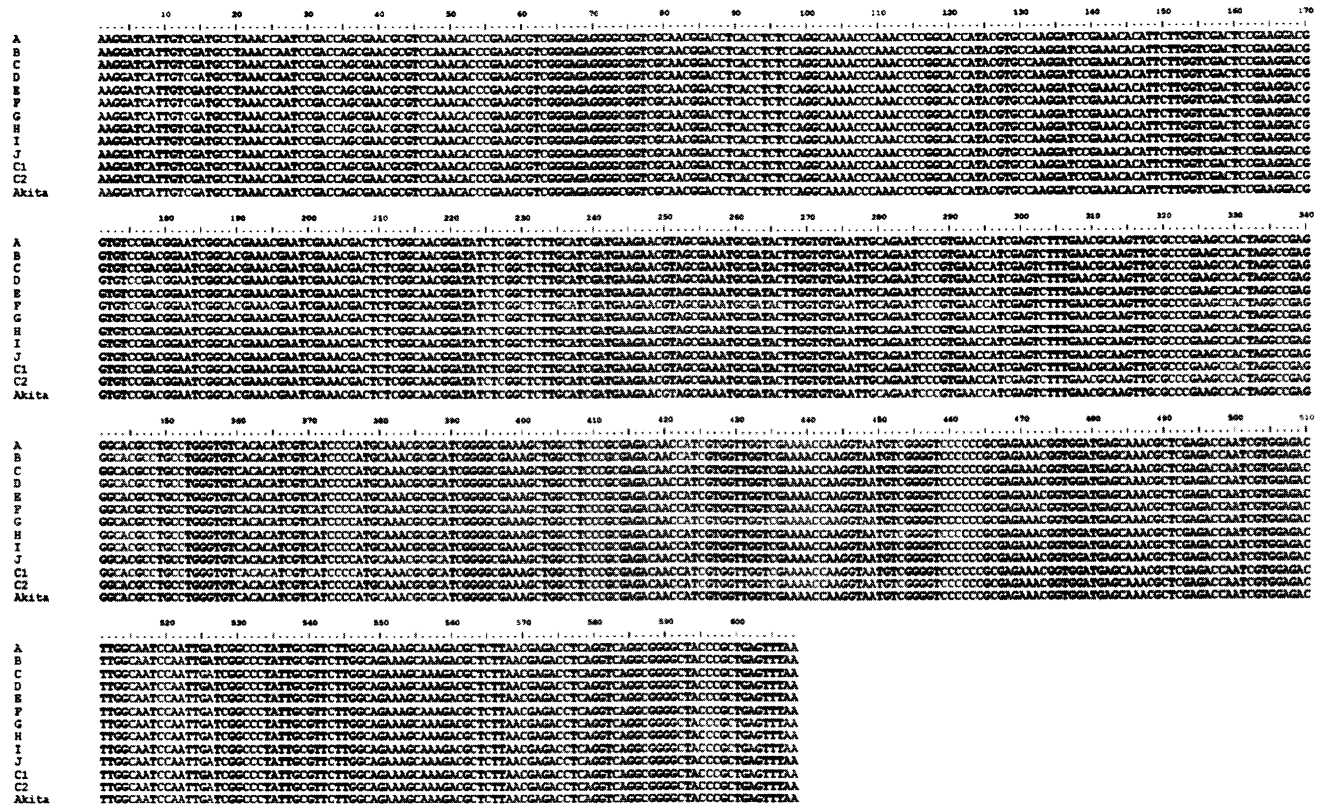
第1表 地上部および根系成育量。

試験区	草丈 (cm)	SPAD 値	葉身乾重 (g/ポット)	葉柄+茎乾重 (g/ポット)	葉数 (枚/ポット)	根系乾重 (g/ポット)	最大根長 (cm)
ハード・無施肥	59.5±11.6	34.3±1.0	0.13±0.04b	0.12±0.03b	18.5±2.5b	0.12±0.03	40.3±2.3b
ハード・3kg 施肥	57.6±13.4	35.2±0.9	0.71±0.03a	0.56±0.01a	46.0±4.0a	0.25±0.06	54.7±9.2ab
ソフト・無施肥	37.4±11.0	33.7±0.9	0.13±0.04b	0.16±0.03b	18.5±4.5b	0.16±0.03	47.7±11.2ab
ソフト・3.5kg 施肥	40.2±4.3	34.2±1.3	0.21±0.03b	0.15±0.01b	21.0±1.7b	0.18±0.02	65.1±2.1a
ソフト・7.0kg 施肥	57.9±6.5	34.6±1.4	-	-	-	-	-
LSD (p=0.05)	n.s.	n.s.	*	*	*	n.s.	*
平均値±標準誤差 (n=8: 草丈, SPAD) (その他 n=3), * 異なるアルファベット間では5%水準で有意							
調査: 2010年8月25日							

び根系乾重が大きかったが、これには土壌の水分含有量が影響している可能性も考えられる。土壌水分が成育に及ぼす影響については次年度で検討する予定である。慣行栽培した大納言の草丈、葉身のSPAD値および根系乾重(8月25日)をヤブツルアズキと比較するとSPAD値は同じであるが、草丈はヤブツルアズキが大きく、根系乾重は大納言で

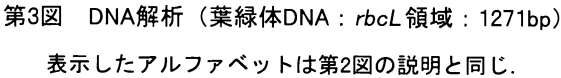
大きいという当然の結果が得られた(第1表)。

(実験2) ITS領域の解析およびrbcL領域の結果を第2図と第3図に示し、今回調査したヤブツルアズキでは、供試サンプルの遺伝子配列に違いが認められず全く同じであった。ヤブツルアズキはアズキと交雑親和性があり、アズキへの遺伝子供給源として利用できる(Siriwardhane et al. 1991)。また、ヤブツルアズキは広範な分布地域があることから、各地の個体を収集する重要性は高いと思われる。一方、採取個体の形状(葉の形状、蔓性か直立性か、茎が緑色か紫色か等)が異なっていることも確認され、これら個体の遺伝子解析の結果から遺伝子的には同じ類に属する事が推測され、この現象はエピジェネティクス(後成的遺伝子制御)による可能性も示唆されるが、詳細についてはデータを増やし今後更に検証する必要がある。



第2図 DNA解析(核DNA: ITS1-5.8S rRNA-ITS2 領域: 607bp)。

アルファベットは、ヤブツルアズキの茎の色・茎の太さ・叢生・葉身の形状および栽培条件を異にするサンプルを示す。A(緑・太い・直立性・切れ葉), B(緑・太い・直立性・丸葉), C(緑・細い・つる性・切れ葉), D(紫・細い・つる性・切れ葉), E(紫・細い・つる性・丸葉), F(紫・太い・つる性・丸葉), G(緑・太い・直立性・切れ葉・NPK7kg/10a施肥), H(紫・細い・つる性・切れ葉・NPK7kg/10a施肥), I(紫・細い・つる性・切れ葉・無施肥), J(紫・細い・つる性・切れ葉・NPK3.5kg/10a施肥), C1(大納言: 栽培種), C2(大納言: 栽培種), Akita(秋田県で自生していたもの: 紫・細い・つる性・切れ葉)



第2表 成育環境が異なるヤブツルアズキの茎直径.

調査区	茎直径(mm)			
津幡	6.12	±	0.25	b
角間	1.59	±	0.05	c
大納言	8.37	±	0.11	a
フェンス	1.72	±	0.06	c
LSD(0.05)	*			

平均値±標準誤差(n=10)

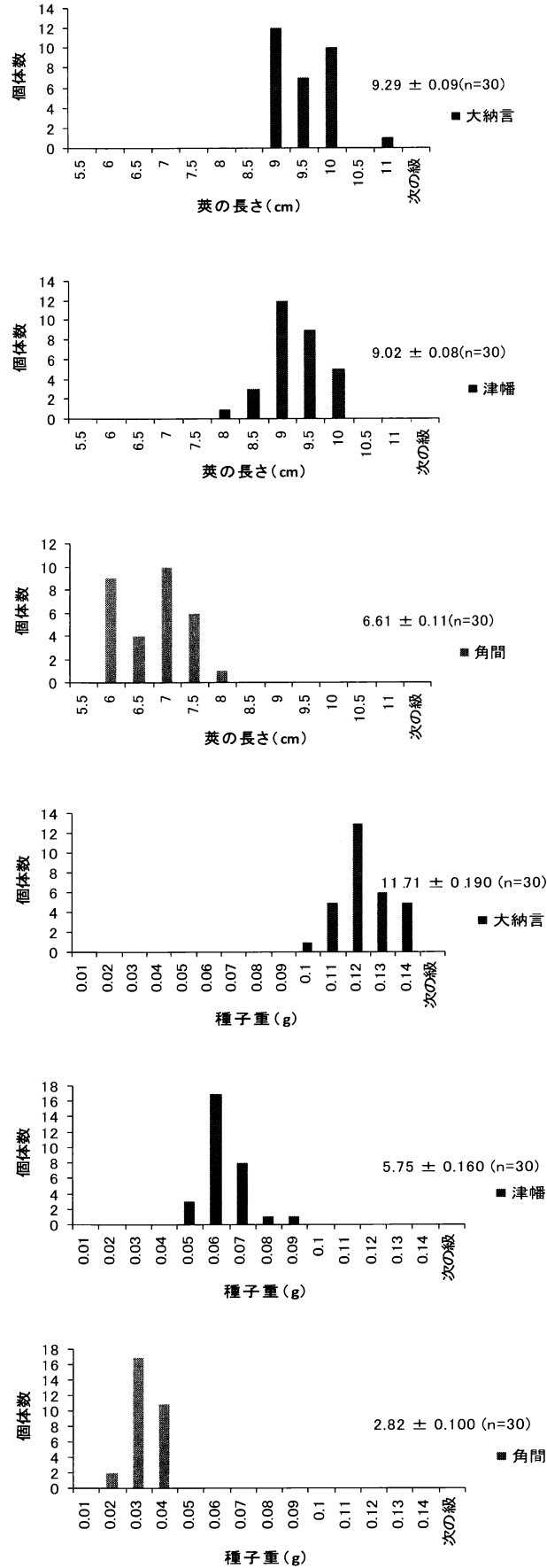
異なるアルファベット間には5%水準で有意.

調査日：2010/9/14

(実験3) 各種の調査区から得られた結果(第2表)を検討したところ、角間で採取したサンプルが最も野生種に近い形態を示すと考えられた。そこで茎直径2mm以下で紫色を呈し、葉身の形状として切れ葉の特徴を持つ個体を基準とし、ヤブツルアズキの他の栽培試験および栽培種(大納言：慣行栽培)の形質的特徴を自然農法で栽培した津幡の特徴と比較した。

莢長および1粒あたりの種子重を測定し、ヒストグラムとして第4図に示した。莢の長さ、1粒重に育成場所の違いによる差異が認められ、大納言(栽培種)が最大値、角間のサンプル(自然状態)が最小値を示し、津幡のサンプル(自然農法)は両者の中間に位置していた。自然農法による栽培は長期間にわたって行われており、施肥等を行わないものの収量を得る目的で栽培していることから、無意識による選抜が行われてきた可能性が示唆される。その結果、自然状態で育成している個体よりも葉、莢が大きくなり種子重も増大するなど少なからず栽培品種に近づいた形態変化が生じてきているものと考えられた。

野生アズキから栽培型アズキに至る過程で最も重要なのが種子の大型化である。アズキは野生種から栽培型へと移行する過程で様々な形質を変化させてきた。形質の変化に関与した(栽培化関連形質)遺伝子がアズキゲノムのどの位置にあるかを明らかにする研究(友岡ら 1999, 2008)が行われ、野生アズキから栽培型アズキへの作物進化に大きく貢献した遺伝子座は少なく、LG1, 2, 4, 6, 7, 9の限られた連鎖群上に乗っていると報告されている。また種子を大型化するQTLは栽培化関連形質遺伝子の中で最も



第4図 莢長と種子重の分布.

多く5つ検出され、それらは莢を大型化するQTL、茎の基部を太くするQTL、つる性を少なくするQTLなどと同じ位置に検出されている。これらが同じ遺伝子の多発現によるものかどうかについては不明であるが、茎が太くなり莢が大型化すると種子も大型化するという現象がみられるはずである（友岡 1999, 2008）。しかし、今回の調査では栽培型アズキのように茎が太くなり莢も大型化した自然農法ヤブツルアズキ（津幡町）でも種子の大型化は顕著には見られなかった。これは津幡においては、今日に至るまでの時間が極めて短い事が原因と考えられる。

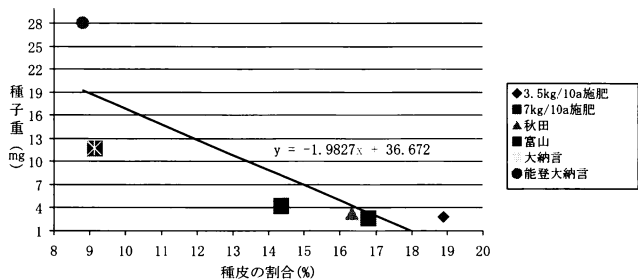
栽培環境を異にする種子に含まれるポリフェノール含有量 (mg/100g) を第3表に示した。アズキにはポリフェノールが多く含まれている。ポリフェノールは抗酸化作用や血中コレステロール抑制などの効果を示す成分で最近では糖尿病予防や殺菌作用の効果もある（佐藤ら 2005）とされている。アズキに含まれるポリフェノールはアントシアニンの中でもシアニジンが種皮に多く含まれている。ヤブツ

ルアズキの種子に含まれるポリフェノール含有量は供試サンプル間で有意差が認められ(5%水準), 最もポリフェノール含有量が高かったのは、自然環境下で採取した種子を3.5 kg-NPK/10a施肥した栽培区であった。適当な施肥をした栽培を行うことでヤブツルアズキ種子のポリフェノール含有量を増加させる事が可能である事が示唆された。市販の能登大納言（石川県珠洲市で栽培）に含まれるポリフェノール含有量は586mgを示し、調査したサンプル内で最も低い値であった。能登大納言の種皮は軟らかく実需者の評価が極めて高いことを考慮すると、今後は種子の機能性成分の向上を含めた検討も必要になるかも知れない。種子に含まれるポリフェノール含有量は種皮比率の大小に影響されると考えられることから、供試サンプルの種皮比率を調査し第5図に示した。ポリフェノール含有量と種皮比率との間には負の相関関係が認められ、種皮比率が高いヤブツルアズキ（種子が小さい）で高いポリフェノール含有量を示した。

第3表 種子に含まれるポリフェノール含有量.

調査区	ポリフェノール含有量(mg/g)			
角間 (3.5kg/10a施肥)	1013.9	±	70.7	a
秋田 (湯沢/自然状態)	955.6	**		ab
角間 (7kg/10a施肥)	925.5	±	22.8	ab
富山 (自然状態)	913.6	±	5.3	ab
角間 (自然状態)	898.8	±	39.1	ab
大納言 (慣行栽培)	849.2	±	37.0	abc
津幡 (自然農法)	828.2	±	2.7	abc
角間 (無施肥)	670.8	±	284.0	bc
能登大納言 (市販品)	586.2	±	36.2	c
LSD(0.05)	*			

平均値±標準誤差(n=3)  
異なるアルファベット間には5%水準で有意。 \*\*秋田のサンプルはn=1  
試験日：2010/11/4



第5図 種子重と種皮比率との関係.

謝 辞

本試験を実施するにあたり、自然農法でヤブツルアズキを栽培している津幡町の中多弘氏と寺西國子氏の協力を得た。また、秋田に自生するヤブツルアズキの採取に際しご尽力頂いた、秋田大学教育文化部寺井謙次氏および秋田市（元秋田県平成高校校長）の沖田貞敏氏に感謝致します。

引用文献

小野貞芳 1985. 日本作物学会四国支部会報 22: 65-66.  
Lumpkin, T. A. and McClary, D. C. 1994. Azuki Bean: Botany, Production and Uses. CAB International.  
佐藤伸ら 2005. 青森県立保健大学校雑誌 6: 130-131.  
島村聡ら 2006. 日本作物学会紀事 78: 480-486.  
Siriwardhane D., et al. 1991. Plant Breeding 107: 320-325.  
Tateishi Y. 1984. I. Sci. Res. Tohoku Univ. 4<sup>th</sup> ser. (Biology) 38: 335-350.  
友岡憲彦ら 1999. 日本作物学会紀事 68 (別1): 186.  
友岡憲彦ら 2008. 独立行政法人農業生物資源研究所・ジーンバンク 調査・試験研究 29-30, 33-36.

(2011年11月2日受付, 2012年2月23日受理)