

食用ハス育種のための形状評価指標と小型容器栽培での活用

永山誓史¹⁾・柏木 優・平松優季²⁾・大寺宇織³⁾・葛谷真輝⁴⁾・石川友子

(茨城県農業総合センター生物工学研究所)

要約

国内で生産される食用ハス (*Nelumbo nucifera*) の形状を評価するため、23 品種・系統の第2 節間の肥大茎を形状解析ソフト「SHAPE」を用いて主成分分析した。その結果、第一主成分は寄与率が 95.2%と極めて高いこと、根茎肥大指数(肥大茎の最大直径/節間長)と高い相関関係 ($r^2=0.99$) を示すことを明らかにした。さらに、3 つの肥大茎形状(短・中・長節)に分類される 4 系統を円形 21L 及び 105L の小型容器で栽培し、第2 節間の根茎肥大指数を現地栽培食用ハスの指数と比較した結果、いずれの容器を用いても現地栽培と同等の系統間差を示すことが示唆された。以上より、21L 及び 105L 小型容器で栽培することで、第2 節間の形状の特徴を根茎肥大指数によって示すことが可能である。

キーワード: 食用ハス、育種、根茎肥大指数、主成分分析、小型容器

1. はじめに

茨城県はハス (*Nelumbo nucifera*) のうち食用ハス(以下、「レンコン」という。)の生産量が日本一(農林水産省、2023: 令和4 年産野菜生産出荷統計)であり、霞ヶ浦の周囲に広範に広がる大産地を有している。県内の産地では、「金澄 36 号」、「ひたちたから」、「パワー」など、千葉県や茨城県の民間育種家が選抜・育種した品種や系統が栽培されている。レンコン育種は、肥大茎の形状、収量性、土壌中の肥大茎形成位置、病害抵抗性等の形質を勘案して行われており(金坂、2010)、このうち、商品価値に関わる重要な形質であるレンコンの肥大茎形状は、地域によって好まれる形が異なることから、各消費地のニーズに合わせた育種が求められている。育種における肥大茎の形状選抜は、節間長の長短や「肩張り」と呼ばれる節部付近の肥大程度等について、生産者の主観により目視で行われており、客観的な指標は確立されていない。

農作物の定量的な形状評価手法については、楕円フーリエ解析と主成分分析を組み合わせる形状評価を行うソフトウェア「SHAPE」が開発されており(Iwata and Ukai, 2002)、本手法では、主成分として抽出された形状特徴を網羅的に数値化し、そのスコアを形状特徴の計測値として解析・評価に供することができる。このため、これまで達観評価がなされていたレンコンの肥大茎の長短や肩張り形状、あるいはこれまで認識されていなかった形状特徴を客観的に評価できる可能性がある。実際に、カキ (*Diospyros kaki*) やキュウリ (*Cucumis sativus* L.) の果実形状を本手法により定量的に評価し、遺伝解析や育種に活用されている(Maeda et al., 2019; Shimomura et al., 2016)。篠原ら(2016)は国内で栽培される主要 15 品種・系統の肥大茎を用い、先端から数えて第1~3 節間の形状を測定し、肥大茎の長さ等に系統間差があったことを報告している。しかしながら肥大茎は、第1 節間が最も短く、第2 節間が第1 節間に次いで短く最も肥大し、第3 節間はやや長く、第4 節間は細く流れた形をしている(尾崎、2013)。このことから、形状を簡易にかつ正確に評価できる部位は現在までに明らかになっていない。

レンコンの育種は、①育種目標の設定、②遺伝資源の探索・収集、③交配した次世代交配集団の育成、④優良系統の選抜⑤品種登録により行われている(霞、2003; 江頭ら、2007; 篠原ら、2021)。レンコンは、肥大茎形成において地下茎が年間7~8 メートルほど伸長するため、広大な圃場、労力、管理費を必要とすることが指摘

-
- 1) 現 茨城県県民生活環境部環境対策課
 - 2) 現 茨城県農業総合センター農業研究所
 - 3) 現 茨城県農業総合センター
 - 4) 現 茨城県農林水産部農業経営課

されており（霞ら、2000）、このことがレンコンの生産者育種を効率的に行えない要因と考えられる。一方、レンコンを小規模に栽培した事例として、500L、1,000L、1,700L の強化プラスチック容器を用いた遺伝資源の保存（霞ら、2000）や、0.4a 区画栽培による優良系統選抜（堀井ら、2016）は行われているが、交配育種では目的形質を有する系統を選抜するために多数の特性を評価しなければならないため、栽培容器をさらに小型化し、評価個体数を確保する必要がある。このため本研究では、多数の系統を栽培できる円形 21L 及び 105L を用いて、形状の異なるレンコン 4 系統を栽培し、最も肥大するとされる第 2 節間について、現地栽培よりも簡易な形状評価が可能か検討した。

なお、本稿においてハスのうち食用に供するものを「レンコン」、レンコンの可食部位を「肥大茎」と称する。

2. 材料及び方法

2. 1 画像解析技術を用いた第 2 節間の客観的評価手法の検討

2. 1. 1 供試品種・系統

2020 年及び 2021 年に国内の各産地で生産されたレンコン 23 品種・系統（以下品種・系統を「系統」という）のうち各肥大茎 3 本を供試した（表 1）。

表 1 肥大茎の客観的評価手法の検討に供試した系統一覧

系統名	由 来	産 地	産 年	収集数 ^{f)}
加賀レンコン	中国種（支那白花系） ^{a)}	石川県	2020	11
オオジロ	中国種（支那白花系） ^{a)}	徳島県	2021	3
ロータス	中国種（支那白花系） ^{a)}	徳島県	2021	10
阿波白秀*	「オオジロ」×「ロータス」 ^{b)}	徳島県	2021	7
連島レンコン	中国種（支那白花系） ^{a)}	岡山県	2020	5
岩国レンコン	中国種（支那白花系） ^{a)}	山口県	2020	6
タマミノリ*	「中国」変異株 ^{c)}	茨城県	2021	10
だるま	中国種選抜 ^{a)}	新潟県	2020	4
備中	備中種 ^{a)}	徳島県	2022	5
みらい選抜	茨城民間育成 ^{d)}	茨城県	2021	6
パワー	茨城民間育成 ^{d)}	茨城県	2020	10
湖北の光	茨城民間育成 ^{d)}	茨城県	2021	6
ひたちたから*	茨城民間育成 ^{d)}	茨城県	2020	8
福ダルマ	茨城民間育成 ^{d)}	広島県	2020	3
金澄 34 号	金澄系 ^{c)}	茨城県	2021	6
金澄 39 号	金澄系 ^{d)}	千葉県	2021	7
金澄系系統	金澄系 ^{d)}	千葉県	2021	3
金澄 20 号	金澄系 ^{c)}	新潟県	2020	4
五泉美人	金澄系と新潟在来 ^{a)} の交雑 ^{a)}	新潟県	2020	4
エノモト*	台湾実生選抜 ^{c)}	新潟県	2020	6
吉田種	不明	茨城県	2021	6
早生種	不明	広島県	2020	4
サカモト	不明	広島県	2020	9

a)澤田（2013）より。 b)篠原ら（2021）より。 c)農林水産省品種登録データ検索（2024）より。 d)茨城県調べ。

e)金坂（2010）より。

f)同じ系統の各肥大茎について、同一株からの採取かは未確認だが、Rad-seq 解析により、供試した肥大茎が同一系統であることを確認済み（データ省略）。

*は登録品種（育成者権が消滅したものを含む）を示す

2. 1. 2 肥大茎の調製と画像データの取得

各系統から第 2 節間の肥大茎を採取し、透過型強化ガラスステージ（XY テーブル F3 微調整付：株式会社エス・エフ・シー）上に置き、下から LED 照明を照射して逆光になるように撮影し、第 2 節間の輪郭を明瞭にした画像を取得した。

2. 1. 3 第2節間の根茎肥大指数の測定及び輪郭形状の主成分分析

取得した画像から、画像解析ソフト「Image J」(<https://imagej.net/ij/>)を用いて、各系統の第2節間の最大直径と節間長を測定し(図1)、根茎肥大指数(最大直径/節間長)(Masuda et al., 2006)を算出した。

また、撮影画像は形状解析ソフト「SHAPE」(Iwata and Ukai, 2002)を用いて、楕円フーリエ記述子により、肥大形状の主成分分析を行った。このとき、楕円フーリエ記述子の数は20とし、計80個の展開係数で形状を記述した。

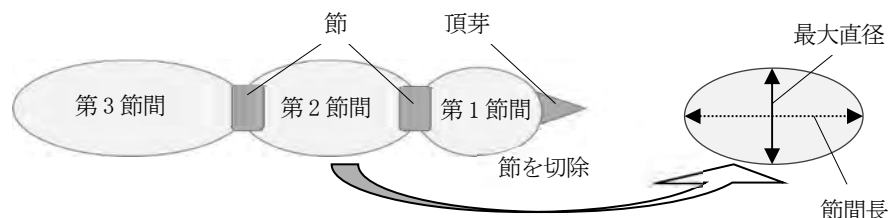


図1 レンコンの根茎肥大指数の算出部位

2. 2 小型容器の活用による第2節間形状の評価

2. 2. 1 供試系統

後述する3.1の結果に基づき、短節間系統として主に茨城県で栽培される‘みらい選抜’及び‘パワー’、中節間系統として主に新潟県で栽培される‘だるま’、長節間系統として主に徳島県で栽培される‘備中’をそれぞれ供試した。

2. 2. 2 小型容器栽培による第2節間形状の比較

2023年4月下旬に、生物工学研究所内の屋外圃場に、円柱形21L容器(直径305mm×深さ295mm)及び105L容器(直径646mm×深さ320mm)を設置し、容量の約8割の用土を詰め、茨城県野菜栽培基準(令和4年3月)のレンコン露地栽培基準量に従って基肥を施肥後湛水し、種ハス1本(全長30cm程度で節数3~4本、芽数は3~4芽(備中においては節数2~3本、芽数は2~3芽))を定植した。湛水状態を維持して栽培管理を行い、6月下旬に前述の基準に従って追肥した。収穫は11月下旬から12月上旬に行い、得られたレンコン全ての第2節間を全て調査した。試験は各系統1区10反復で行った。

対照は、現地圃場での慣行栽培で第1から3節間までが30cm以上となったレンコン(同一圃場で生産)とし、‘パワー’、‘だるま’、‘備中’についてはそれぞれ茨城県土浦市、新潟県長岡市、徳島県鳴門市の2023年作、‘みらい選抜’については茨城県土浦市の2022年作とした。

各区において、第2節間の根茎肥大指数を、試験2.1.2の手法により調製し画像データを取得した後、試験2.1.3の手法により算出した。

各試験区で収穫した第2節間は、試験2.1.2の手法により調製し画像データを取得した後、試験2.1.3の手法により根茎肥大指数を算出した。各系統の根茎肥大指数は、EZR version1.68(Kanda, 2013)を用いて、Steel-Dwassによる多重比較を行った。

3. 結果及び考察

3. 1 画像解析技術を用いた第2節間形状の客観的評価手法の検討

レンコン23系統の第2節間形状を主成分分析した結果、第一、第二主成分の寄与率はそれぞれ95.2%、1.0%となり、第一主成分で形状の殆どが決定できることが示された(図2)。

各系統の根茎肥大指数は0.40~0.86の範囲で広く分布し(表2)、各系統の根茎肥大指数は形状の第一主成分と高い相関($r^2=0.993$)を示した。各系統の根茎肥大指数について、得られた指数の平均値の最小値(0.4)、最大値(0.86)の範囲を3分割し、0.55未満を長節間系統、0.55以上~0.70未満を中節間系統、0.70以上を短節間系統として分類した。篠原ら(2016)は、レンコンを由来別(‘備中種’、‘中国種’、‘金澄系’、‘その他’)に分類し、その肥大指数を比較すると、‘備中種’が小さく、‘金澄系’と‘その他’が大きく、‘中国種’は

その中間であることを報告している。筆者らの分類においては、中国種である‘ロータス’が長節間系統に分類されたものの、それ以外の系統については同様の傾向が得られた。

第2節間の根茎肥大指数はその形状に対する寄与率が高いだけでなく、算出が容易であることから、レンコン育種の形状評価において有効な手法と考えられる。一方で、これまで数値化した評価が困難だった肩張りについては、その決定に関わる主成分は検出されなかった。

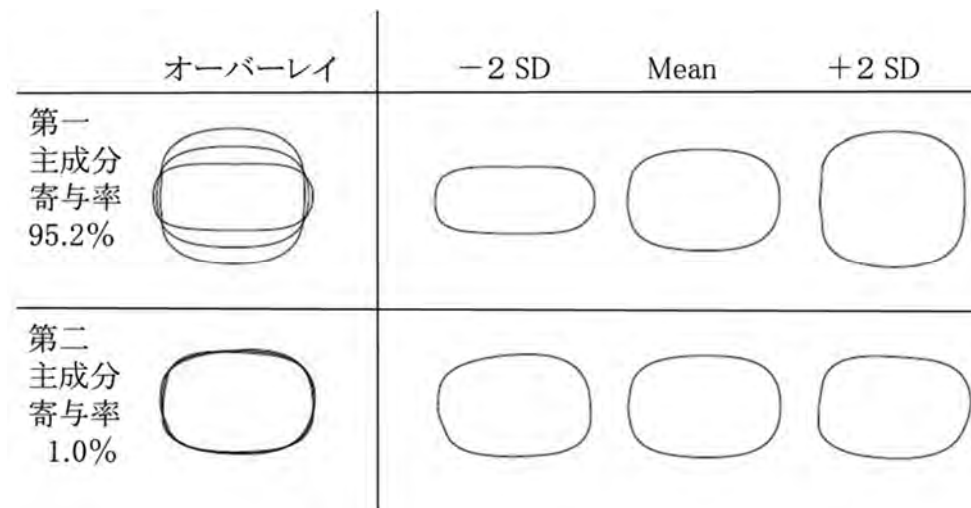


図2 形状解析ソフト「SHAPE」により抽出された第2節間形状に係る主成分とその形状

形状解析ソフト「SHAPE」により主成分として抽出された形状特徴を、楕円フーリエ記述子により再計算し、視覚化したもの。各主成分について、Mean は第一主成分が0に当たる形状を表し、 $\pm 2SD$ (標準偏差) は Mean (平均値) と標準偏差の2倍の和 (または差) の主成分値に相当する形状を示している。

表2 供試系統の第2節間の根茎肥大指数

系統名	根茎肥大指数 $\pm SD$	形状 分類	系統名	根茎肥大指数 $\pm SD$	形状 分類
加賀レンコン	0.60 ± 0.008	中節間	ひたちたから	0.73 ± 0.078	短節間
オオジロ	0.55 ± 0.034	中節間	福ダルマ	0.67 ± 0.007	中節間
ロータス	0.50 ± 0.056	長節間	金澄34号	0.78 ± 0.091	短節間
阿波白秀	0.59 ± 0.029	中節間	金澄39号	0.80 ± 0.023	短節間
連島レンコン	0.61 ± 0.010	中節間	金澄系系統	0.86 ± 0.033	短節間
岩国レンコン	0.58 ± 0.044	中節間	金澄20号	0.73 ± 0.053	短節間
タマミノリ	0.79 ± 0.071	短節間	五泉美人	0.62 ± 0.033	中節間
だるま	0.58 ± 0.020	中節間	エノモト	0.78 ± 0.007	短節間
備中	0.40 ± 0.029	長節間	吉田種	0.66 ± 0.015	中節間
みらい選抜	0.78 ± 0.086	短節間	早生種	0.72 ± 0.055	短節間
パワー	0.71 ± 0.031	短節間	サカモト	0.79 ± 0.068	短節間
湖北の光	0.64 ± 0.048	中節間			

表中の根茎肥大指数及びSD (標準偏差) の値は、それぞれ供試した各系統3本の指数の平均値及びそのSD (標準偏差)。第2節間の分類は、0.55未満を長節間系統、0.55以上～0.70未満を中節間系統、0.70以上を短節間系統として分類した。

3. 2 小型容器の活用による第2節間形状の評価

第2節間の形状が異なる供試4系統について、現地栽培における根茎肥大指数を比較した結果、短節間系統の‘パワー’及び‘みらい選抜’、中節間系統の‘だるま’、長節間系統の‘備中’グループ間で5%水準の有意差が検出された (図3)。円形21L及び105Lの小型容器栽培で栽培した供試4系統についても同様に、根茎肥大指数を比較した結果、短節間系統の‘パワー’及び‘みらい選抜’についてはそれぞれ0.64～1.08及び0.76～1.11、中節間系統の‘だるま’については0.55～0.75、長節間系統の‘備中’については0.35～0.50とグループ間で5%水準の有意差が検出され、現地栽培の傾向と同様の結果を示した。このことから、小型容器を用いた栽培により、各系統の第2節間を短節間、中節間、長節間の形状別に分けることができると推察された。

一方、円形 105L 容器で栽培した‘パワー’は根茎肥大指数のばらつきが大きく (0.64~1.05)、円形 21L 容器で栽培した‘みらい選抜’は現地栽培の根茎肥大指数 (0.71~0.79 (外れ値を除く)) よりも大きい値 (0.87~1.11 (外れ値を除く)) となった。この要因として、生育中に容器の縁に沿うようにしてランナーが伸長するため、小型容器栽培によって形成されたレンコンの形状が全体的に湾曲してしまうこと、現地栽培では物理的な障壁がないためストレスなく肥大できることが考えられる。以上のように、小型容器栽培では形状のばらつきが現地栽培に比べて大きくなる傾向にあるため、実際の育種においては、1 次選抜等の系統選抜の早い段階において活用することが有用と考えられる。

江頭ら (2007) は、レンコン‘さが白祥’育成の際に形状評価を行う 1 次選抜として、直径 60cm×深さ 35cm の容器による栽培を行っているが、これまでレンコンの容器サイズによる肥大形状の変化については報告が無かった。本試験により、形状評価に適する容器サイズが明らかとなり、効率的な育種選抜に資すると考えられる。また、現地と小型容器は系統間において同様な節間の傾向を示したが、小型容器のばらつきが大きいことを根茎肥大指数により客観的に表すことができた。節間形状の数値化が図れたことで、従来の主観的な指数評価では難しかったばらつきの把握や形状データの蓄積が容易となり、より詳細な節間形状の比較や統計処理が可能となった。

本研究は、第 2 節間の肥大茎を用いてその形状の定量的評価手法を開発するとともに、本評価手法を用いて小型容器で栽培した肥大茎を比較することにより、現地栽培よりも簡易に短、中、長の形状を評価できることを示した。これらの評価手法を用いて、レンコン育種を効率化することにより、消費者ニーズに即した選抜を行うことが可能である。

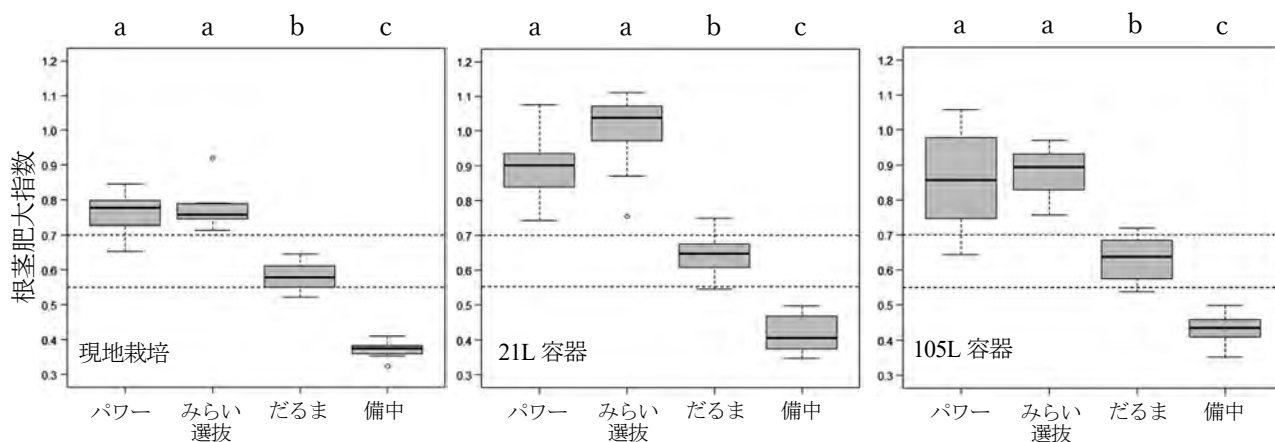


図3 現地栽培及び小型容器栽培における系統別肥大茎第2節間の根茎肥大指数の比較

サンプル数について、現地栽培の‘みらい選抜’は7、21L 容器の‘だるま’は9、その他はすべて10である。箱ひげ図中の中央太線は中央値、箱の上端は第三四分位、下端は第一四分位を示す。ひげの長さは四分位範囲 (IQR) の 1.5 倍 (上限=第三四分位数+1.5×IQR、下限=第一四分位数-1.5×IQR) とし、外れ値は○で示した。Steel-Dwass の多重比較により異なる小文字アルファベット間で5%水準の有意差があることを示す。

図中の破線は、第2節間の形状分類の境界を示し、0.55未満を長節間系統、0.55以上~0.70未満を中節間系統、0.70以上を短節間系統として分類した。

謝辞

土浦市レンコン生産者の橘氏、徳島県立農林水産総合技術支援センターの篠原氏及びJA えちご中越の長谷川氏には本研究における肥大茎サンプルの提供にご協力いただきました。また、県南農林事務所経営・普及部門、農業総合センター園芸研究所、生物工学研究所の皆さまにはサンプル収集のための連絡調整やレンコンのサンプル調製にご尽力いただきました。ここに感謝申し上げます。

付記

本研究は、文部科学省「特別電源所在県科学技術振興事業補助金」により実施した。

引用文献

- 江頭淳二・甲斐田健史・山口史子・尾崎行生・森 欣也(2007)レンコン新品種「さが白祥」の育成. 佐賀農セ研報 34 : 29-40.
- 堀井 学・八城和敏・島本桂介・貝塚隆史・金子賢一・石井亮二 (2016) 茨城県における年内掘りに適したレンコン優良系統の選抜. 茨城県農業総合センター生物工学研究所研究報告 15 : 41-51.
- 茨城県農業総合センター (2022) 茨城県野菜栽培基準 (III根菜類、10 レンコン) : 172-175.
- Iwata, H., Ukai, Y. (2002) SHAPE: a computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors, *Journal of Heredity* 93:384-385.
- 金坂孝澄 (2010) レンコン品種, 金澄 20 号・34 号・36 号の育成. 農林水産研究ジャーナル 33 : 16-19.
- Kanda, Y. (2013) Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics, *Bone Marrow Transplantation* 48:452-458.
- 霞 正一・八城和敏・佐久間文雄・林 幹夫 (2000) 繊維強化プラスチック製大型容器を用いた食用ハス遺伝資源の簡易保存と交配育種への利用. 茨城県農業総合センター生物工学研究所研究報告 3 : 59-65.
- 霞 正一 (2003) 食用ハスの交配育種法. 茨城県農業総合センター生物工学研究所研究報告 6 : 31-42.
- Maeda, H., Akagi, T., Onoue, N., Kono, A. and Tao, R. (2019) Evolution of Lineage-Specific Gene Networks Underlying the Considerable Fruit Shape Diversity in Persimmon, *Plant Cell Physiology* 60:2464-2477.
- Masuda, J., Urakawa, T., Ozaki, Y and Okubo, H. (2006) Short photoperiod induces dormancy in Lotus (*Nelumbo nucifera*), *Annals of Botany* 97:39-45.
- 農林水産省(2023) 令和 4 年産野菜生産出荷統計 (http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/nougyou_sansyutu/index.html) (2024 年 10 月 30 日アクセス)
- 農林水産省(2024) 品種登録データ検索 (<https://www.hinshu2.maff.go.jp/vips/cmm/apCMM110.aspx?MOSS=1>) (2024 年 10 月 30 日アクセス)
- 尾崎行生 (2013): レンコン基礎編レンコン＝植物としての特性. 農業技術大系野菜編, 農文協 (東京), 10.追録. 38 号 : 3-6.
- 澤田英司 (2013): レンコン基礎編レンコン＝植物としての特性. 農業技術大系野菜編, 農文協 (東京), 10.追録. 38 号 : 25-32.
- Shimomura, K., Horie, H., Sugiyama, M., Kawazu, Y., Yoshioka, Y. (2016) Quantitative evaluation of cucumber fruit texture and shape traits reveals extensive diversity and differentiation, *Scientia Horticulturae* 199:133-141.
- 篠原啓子・山本真也・佐藤章裕・津田毅彦・吉原 均・佐藤泰三・沢田英司・板東一宏・村井恒治(2021) レンコン新品種「阿波白秀」の育成とその特性. 徳島県立農林水産総合技術支援センター 研究報告 8 : 9-16.
- 篠原啓子・圓藤勝義・澤田英司・永峰賢一・水口博之・福井裕行 (2016) 食用ハス(*Nelumbo nucifera*)における肥大根茎(レンコン)の形状の品種・系統間差. 徳島県立農林水産総合技術支援センター 研究報告 3 : 7-13.

Establishment of Shape Evaluation Indices for Edible Lotus Breeding and Their Application in Small Container Cultivation

**Chikashi NAGAYAMA¹,Yuu KASHIWAGI,Yuki HIRAMATSU,Takaori ODERA,
Maki KUZUYA and Tomoko ISHIKAWA**

Summary

To evaluate the shape of domestically-produced edible lotus (*Nelumbo nucifera*), the second internodes of enlarged stems from 23 varieties and lines were analyzed using “SHAPE”, a piece of shape analysis software, through principal component analysis. The results revealed that the first principal component had an extremely high contribution rate of 95.2% and showed a strong correlation ($r^2=0.99$) with the rhizome enlargement index (maximum diameter of the enlarged stem/internode length).

Furthermore, four lines classified into three enlarged stem shapes (short, medium, and long internodes) were cultivated in small circular containers of 21 L and 105 L, and the rhizome enlargement index of the second internode was compared with that of field-grown edible lotus. The results suggested that the differences among lines observed in field cultivation could also be evaluated using either of the small containers.

These findings indicate that the shape of the enlarged stem in the second internode can be estimated using the rhizome enlargement index, calculated from the maximum diameter and internode length, based on plants cultivated in small containers holding 21 L and 105 L.

Keywords: lotus root, breeding, rhizome enlargement index, principal component analysis, small container

¹ Address: Environmental Management Division,Department of Residential and Environmental Affairs, 978-6 Kasahara-cho, Mito, Ibaraki 310-8555, Japan