

日本産ミヤマシケシダ 3 変種の染色体数

堀 清鷹 *

Cytotypes of three varieties of *Deparia pycnosora* (Athyraceae) in Japan. HORI Kiyotaka* (* The Kochi Prefectural Makino Botanical Garden, 4200–6 Godaisan, Kochi, 781–8125 Japan)

There have been several reports on cytotypes of *Deparia pycnosora* sensu lato from Japan. However, previous cytological reports were made before three varieties of *D. pycnosora* were identified. Thus, the author examined the three varieties to determine their respective cytotypes based on the chromosome number and spore number per sporangium, and ploidy analysis. *D. pycnosora* var. *pycnosora* and *D. pycnosora* var. *mucilagina* can be diploid ($2n = 80$), while *D. pycnosora* var. *albosquamata* can have a tetraploid sexual cytotype ($2n = 160$). However, *D. pycnosora* var. *albosquamata* can be allotetraploid as its DNA content was slightly smaller than two times of the diploid varieties.

Keywords

Athyriaceae, chromosome number, *Deparia*

メシダ科, 染色体数, シケシダ属

1 はじめに

オオシケシダ属 *Deparia* はメシダ科に属する大きな群のひとつであり、60–90 種が主に東アジアから知られているが、他にはアフリカ、西インド諸島、北東アメリカ、ハワイ諸島、オーストラリア、ニュージーランド、南太平洋諸島にも分布する¹⁻⁷⁾。本属は中軸の溝が葉軸につながらないことと、網状の鱗片をもつことが特徴である^{1, 2, 5, 6, 8-10)}。これは、メシダ科の他の属、例えばウラボシノコギリシダ属 *Anisocampium*, メシダ属 *Athyrium*, ノコギリシダ属 *Diplazium*, *Ephemeropteris* (和名なし), *Pseudathyrium* (和名なし) には見られない特徴である^{2, 7, 8)}。加えて、葉軸の腹側に U 字型の狭い溝ができるのも本属の特徴である⁵⁾。

オオシケシダ属の基本染色体数は 40 であり²⁾、日本国内からは 2 倍体、3 倍体、4 倍体、5 倍体、6 倍体が報告されている¹¹⁾。ほとんどの報告ではそれぞれの種類について 1 種類の倍数性のみが報告されており、種内の倍数性の変異は知られていないが、本属の少数の種からは倍数体の変異が報告されている^{11, 12)}。広義ミヤマシケシダ *Deparia pycnosora* (H.Christ)

Kato からは、これまで日本国内において複数の染色体数の報告が行われているが、2 倍体¹³⁻¹⁵⁾と 4 倍体^{16, 17)}の 2 つの報告が存在していた。

その後、Kato¹⁾は広義ミヤマシケシダを 3 変種に分割する見解を発表した。その外部形態は次のように区別された。まず母変種の狭義ミヤマシケシダ *D. pycnosora* (Christ) M. Kato var. *pycnosora* は、葉身に腺毛はなく鱗片は葉柄基部に密生するものの、上部に向かって急に少なくなるのが特徴である。次にハクモウイノデ *D. pycnosora* var. *albosquamata* M. Kato は葉柄基部の鱗片が密生するものの、ミヤマシケシダ *D. pycnosora* var. *pycnosora* と比べて緩やかに少なくなり、葉身には腺毛が認められる。ウスゲミヤマシケシダ *D. pycnosora* var. *mucilagina* M. Kato は葉柄基部の鱗片は少なく、根茎は粘液で覆われる。これらのうち、母変種のミヤマシケシダのタイプ産地は韓国であり、残りの 2 変種は日本固有種である。しかし、Kato¹⁾は広義ミヤマシケシダに 2 倍体と 4 倍体があることは認めつつも、それぞれの 3 変種の染色体数は確認していない。そのため、どの変種が 2 倍体であり、または 4 倍体なのかははっきりしていない。関連して、Hirabayashi¹⁸⁾と Mitui¹⁷⁾は日本国内から *D. pycnosora* var. *vegetius* Sa.Kurata の 2 倍体有性生

* 〒 781–8125 高知県高知市五台山 4200–6 牧野植物園

殖型を報告しているが、海老原¹⁹⁾はこの学名はウスゲミヤマシケシダに対して誤って用いられたものであるとしている。ただし、海老原¹⁹⁾はウスゲミヤマシケシダが2倍体有性生殖型であると述べているが、染色体観察は実施していない。本研究では、各3変種の染色体数の算定とDNA量の測定によって、これらの問題の解決を試みた。

2 方法

2・1 染色体観察

証拠標本は東京都立大学牧野標本館(MAK)または高知県立牧野植物園の標本庫(MBK)に収蔵した。染色体数は根端分裂組織の体細胞を用いて行った。野外で根を採集後、13°C–16°Cの0.004 Mの8-ヒドロキシキノリン液中にて7–10時間処理した。エタノールと酢酸の混合液(3:1)を用いて3日間固定した。固定した根は60°Cに熱した1 N HClと45%酢酸の混合液(1:1)中にて加水分解処理を5分程度行い、2%酢酸オルセイン液中で解離を行った。染色体は顕微鏡(Leica DM2500)にて観察を行い、デジタルカメラ(Leica Application Suite LAS v.4.4)を用いて撮影した。胞子の形状の観察を行うことで、稔性の有無と生殖様式を推定した。シダ植物の生殖様式には無配生殖型と有性生殖型が知られ、1胞子のうあたりの胞子数で推定することが可能である¹⁸⁾。もし32個ならば無配生殖型、64個ならば有性生殖型と推定した²⁰⁾。

2・2 DNA量の測定

倍数性の推定にあたっては、DNA量(2C値)をHori et al.²¹⁾の方法に従い、羽片から専用のキットCystain UV Precise P kit (Sysmex, Norderstedt, Germany)を用いて抽出し、DAPI染色のうえで、プロイディーアナライザー(Cyflow Ploidy Analyzer PA-II, Partec, Münster, Germany)を用いて蛍光強度を測定した。核の抽出にあたっては、約100 mm²の羽片を0.25 mlの抽出液中に浸して片刃カミソリで細かく刻んだ。次に、0.8 mlの染色液を加え、30 µmメッシュのナイロンフィルター(Partec)でろ過を行った。また、ハクモウイノデに対する内部標準として25 mm²のタバコ*Nicotiana tabacum* L. (2C値は10.04 pg)²²⁾を用いた。ただし、ミヤマシケシダとウスゲミヤマシケシダはゲノムサイズが内部標準とゲノムサイズが近く、比較することができなかったため、コウライイヌワラビモドキ*D. henryi* (Baker) M.Kato (証拠標本番号:Hori 3028)²³⁾のゲノムサイズを計測し

たうえで比較に用いた。

3 結果と考察

3変種の染色体数はハクモウイノデが $2n = 160$ 、その他の2変種は $2n = 80$ と推定された(図1)。胞子は正常で、生殖様式はいずれも有性生殖型と推定された。ハクモウイノデのDNA量は 21.8 ± 0.9 pg ($n = 4$)と推定された。他の2変種については、まず比較対象のコウライイヌワラビモドキのDNA量が20.5 pgと推定されたうえで、ミヤマシケシダが 13.2 ± 0.3 pg ($n = 4$)、ウスゲミヤマシケシダが 13.7 ± 0.1 pg ($n = 4$)と推定された。

今回用いた材料を用いて算定された染色体数と推定されたDNA量に基づけば、ミヤマシケシダとウスゲミヤマシケシダの2変種はハクモウイノデより明らかにゲノムサイズは小さいと言える。また、これら2変種はほぼゲノムサイズが同じことも考慮すると、これらは2倍体有性生殖型であると思われる。ハクモウイノデの染色体数は4倍体であることを示しており、DNA量はミヤマシケシダとウスゲミヤマシケシダの2倍よりやや小さいため、異質倍数体である可能性がある。

以上に述べた結果に基づけば、ミヤマシケシダの3変種の倍数性は、母変種ミヤマシケシダが2倍体有性生殖型、ウスゲミヤマシケシダが2倍体有性生殖型、ハクモウイノデが異質倍数体の4倍体有性生殖型である可能性が高いと結論づけられる。

本研究では、Mitui¹⁷⁾が*D. pycnosora* var. *vegetius*の2倍体有性生殖型を報告するのに用いた材料の採集地である戸隠高原奥社を訪れ、当地の材料も使用した。当地の材料では2倍体と4倍体が確認できたが、外部形態より前者がウスゲミヤマシケシダ、後者がハクモウイノデであることを確認した。過去の染色体数の報告がどの変種に対応していたのかは、証拠標本を確認することで確定できる可能性があるが、古い先行研究では標本の収蔵先が示されていないこともある。分布域を網羅しているわけではないので、ハクモウイノデの2倍体有性生殖型の存在を完全に否定することはできないが、本研究では複数の離れた地域から採集したサンプルを用いている。先述の結論は、先行研究の証拠標本の確認や一層のサンプリングで確かめられると考えられる。

Voucher specimens in this study.

Data are in the order: Species name —locality

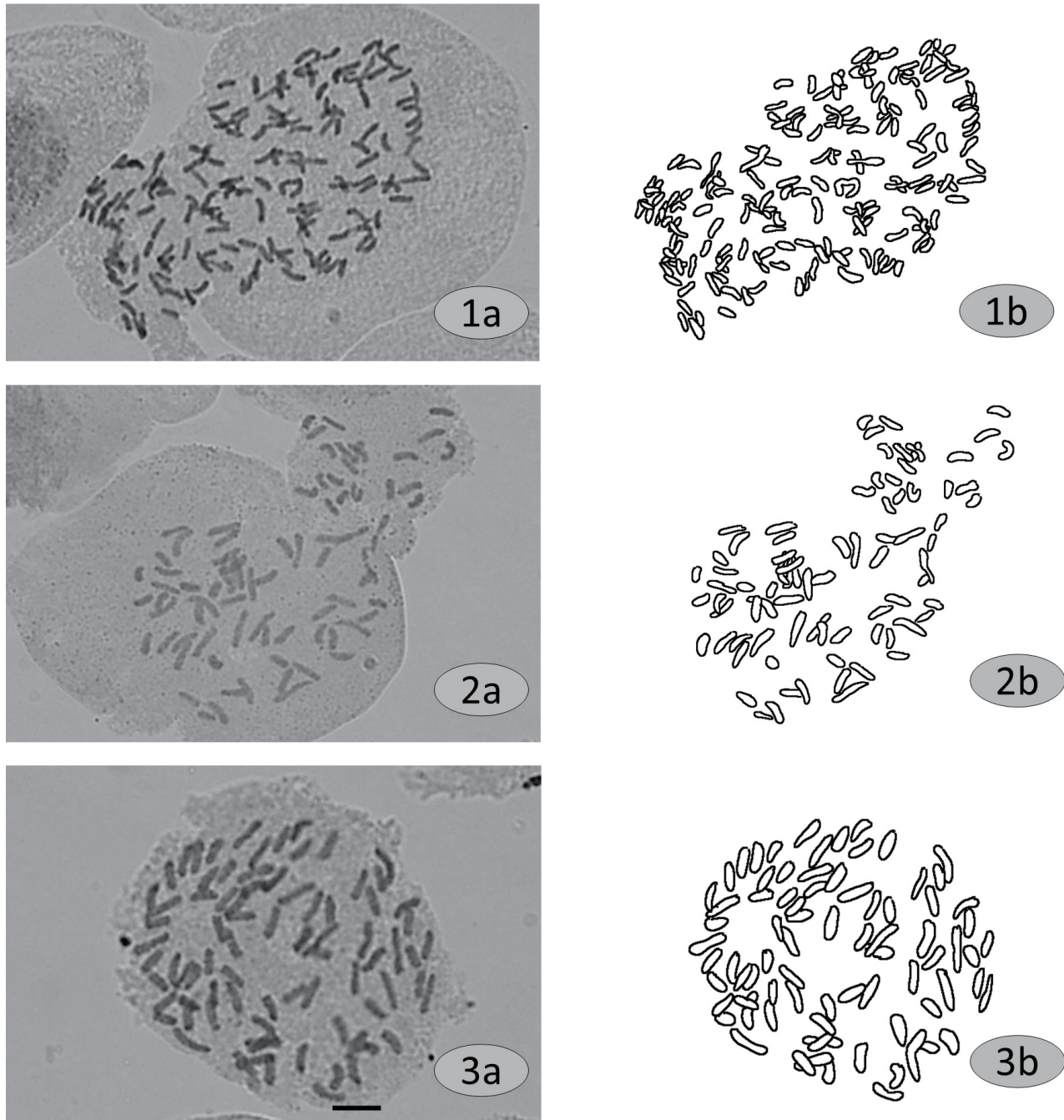


図1 日本産ミヤマシケシダ 3 変種 (1-3) の体細胞分裂像の染色体画像 (a) とスケッチ (b).

1, ハクモウイノデ *D. pycnosora* var. *albosquamata* ($2n=160$, Hori 3382); 2, ミヤマシケシダ *D. pycnosora* var. *pycnosora* ($2n=80$, Hori 3482); 3, ウスゲミヤマシケシダ *D. pycnosora* var. *mucilaginata* ($2n=80$, Hori 3379). スケールバーは $4 \mu\text{m}$.

voucher (Herbarium); chromosome number and/or reproductive mode; DNA contents; estimated ploidy level.

***Deparia pycnosora* var. *albosquamata* M. Kato** ハクモウイノデ — JAPAN. Nara pref., Yoshinogun, Tenkawa-mura, Dorokawa; planted coniferous forest comprise *Cryptomeria japonica* (Tunb. ex L.f.) D.Don, on soil, 600-m alt.; 15 Jul 2018, Hori 3041

(MBK0302984); sexual; 23.4; tetraploid. Nagano Pref., Nagano-shi, Togakushi shrine, Okusha; planted coniferous forest comprise *Cryptomeria japonica* (Tunb. ex L.f.) D.Don, on soil, 1200-m alt.; Jul 9 2020, Hori 3382 (MAK467047); $2n=160$, sexual; 23.3; tetraploid. *ibid.*, Hori 3383 (MAK467048); $2n=160$, sexual; 19.7; tetraploid. *ibid.*, Hori 3384 (MAK467049); $2n=160$, sexual; 20.8; tetraploid.

Deparia pycnosora* (H.Christ) M. Kato var. *pycnosora ミヤマシケシダ — JAPAN. Aomori Pref., Kamikita-gun, Tohoku-cho; planted coniferous forest comprise *Cryptomeria japonica* (Tunb. ex L.f.) D.Don, on soil, 30-m alt.; Jul 26 2018, *Hori* 3052 (MBK0302858); $2n=80$, sexual; 14.0; diploid. Aichi Pref., Toyota-shi, Sanage-river; planted coniferous forest comprise *Cryptomeria japonica* (Tunb. ex L.f.) D.Don, on soil, 200-m alt.; Oct 12 2020, *Hori* 3482 (MAK467111); $2n=80$, sexual; 13.5; diploid. *ibid.*, *Hori* 3485 (MAK467114); -, sexual; 12.2; diploid. *ibid.*, *Hori* 3486 (MAK467115); $2n=80$, sexual; 13.1; diploid.

***Deparia pycnosora* var. *mucilaginata* M. Kato** ウスゲミヤマシケシダ — JAPAN. Akita pref., Yurihonjo-shi, Hachinosawa; planted coniferous forest comprise *Cryptomeria japonica* (Tunb. ex L.f.) D.Don, on soil, 130-m alt.; Jul 6 2020, *Hori* 3386 (MAK467051); $2n=80$, sexual; 13.8; diploid. Nagano Pref., Nagano-shi, Togakushi shrine, Okusha; planted coniferous forest comprise *Cryptomeria japonica* (Tunb. ex L.f.) D.Don, on soil, 1200-m alt.; Jul 9 2020, *Hori* 3379 (MAK467044); $2n=80$, sexual; 13.5; diploid. *ibid.*, *Hori* 3380 (MAK467045); $2n=80$, sexual; 14.1; diploid. *ibid.*, *Hori* 3381 (MAK467046); $2n=80$, sexual; 13.5; diploid.

引用文献

- 1) Kato, M. : The journal of faculty of Science, University of Tokyo, Section III, 13, 371–430 (1984).
- 2) Rothfels, C.J., Sundue, M.A., Kuo, L.-Y., Larsson, A., Kato, M., Schuettpelz, E. & Pryer, K.M. : *Taxon*, 61, 515–533 (2012).
- 3) He, Z., Wang, Z. & Kato, M. : “*Deparia*” (Wu, Z.Y., Raven, P.H., Hong, D.Y. eds), 443–447 (2013), (Science Press, Beijing & Missouri Botanical Garden, St. Louis).
- 4) Kuo, L.Y., Ebihara, A., Shinohara, W., Rouhan, G., Wood, K.R., Wang, C.N. & Chiou, W.L. : *Mol. Phyl. Evol.*, 104, 123–134 (2016).
- 5) Kuo, L.Y., Ebihara, A., Hsu, T.C., Rouhan, G., Huang, Y.M., Wang, C.N., Chiou, W.L. & Kato, M. : *Syst. Bot.*, 43, 645–655 (2018).
- 6) PPG I. : *J. Syst. Evol.*, 54, 563–603 (2016).
- 7) Moran, R.C., Hanks, J.G. & Sundue, M. : *Taxon*, 68, 425–441 (2019).
- 8) 加藤雅啓 : *Acta Phytotax. Geobot.*, 25, 119–126 (1973).
- 9) Kato, M. : *Bot. Mag. Tokyo*, 90, 23–40 (1977).
- 10) Sundue, M.A. & Rothfels, C.J. : *Ann. Bot.*, 113, 35–54 (2000).
- 11) Takamiya, M. : “Index to chromosomes of Japanese Pteridophyta (1910–1996)” (1996), (Japan Pteridological Society, Tokyo).
- 12) Nakato, N., Ebihara, A., Watanabe, M. & Tsutsumi, C. : *Bull. Natl. Mus. Nat. Sci., Ser. B*, 46, 17–27 (2020).
- 13) Mitui, K. : *J. Jap. Bot.*, 40, 117–124 (1965).
- 14) Mitui, K. : *Sci. Rep. Tokyo Kyoiku Daigaku, Sec. B.*, 13, 285–333 (1968).
- 15) Mitui, K. : *J. Jap. Bot.*, 45, 84–90 (1970).
- 16) 栗田子郎 : *植物研究雑誌*, 35, 269–272 (1960).
- 17) Mitui, K. : *Bull. Nippon Dental Univ., General Edu.*, 9, 217–229 (1980).
- 18) Hirabayashi, H. : *J. Jap. Bot.*, 45, 45–52 (1970).
- 19) 海老原淳 : “日本産シダ植物標準図鑑 II” (2017), (学研出版).
- 20) Manton, I. : “Problems of Cytology and Evolution in the Pteridophyta.” (1950), (Cambridge University Press, Cambridge).
- 21) Hori, K., Tono, A., Fujimoto, K., Kato, J., Ebihara, A., Watano, Y., & Murakami, N. : *J. Plant Res.*, 127, 661–684 (2014).
- 22) Johnston, J. S., Bennett, M. D., Rayburn, A. L., Galbraith, D. W. & Price, H. J. : *Am. J. Bot.*, 86, 609–613 (1999).
- 23) Hori, K. : *Hikobia*, 17, 315–320 (2018).

本研究は科研費 18K14785（研究者代表：堀清鷹）の支援を受けて行われた。また、材料採集にあたっては堀井雄治郎氏、プロイディーアナライザーの使用については東京都立大学牧野標本館の村上哲明先生にご協力いただき、深く感謝いたします。

(2021 年 7 月 6 日受付, 2021 年 11 月 27 日受理)