

皇居にのみ現存する園芸植物カモメギクの細胞学的観察

中田 政 司^{1*}・門 田 裕 一²

¹ 富山県中央植物園 〒939-2713 富山市婦中町上轡田42

*E-mail: nakata@bgty.org

² 国立科学博物館植物研究部 〒305-0005 茨城県つくば市天久保4-1-1

Cytological Observations of *Chrysanthemum seticuspe* (Maxim.) Hand.-Mazz.
f. *seticuspe*, a Horticultural Plant Preserved at Only the Imperial Palace, Tokyo

Masashi Nakata^{1*} and Yuichi Kadota²

¹ Botanic Gardens of Toyama,

42 Kamikutsuwada, Fuchu-machi, Toyama-shi, Toyama 939-2713, Japan

*E-mail: nakata@bgty.org

² Department of Botany, National Museum of Nature and Science,

4-1-1 Amakubo, Tsukuba, Ibaraki 305-0005, Japan

Abstract. *Chrysanthemum seticuspe* (Maxim.) Hand.-Mazz. f. *seticuspe* (family Asteraceae) is a horticultural plant found in Japan. It was cultivated in Edo (currently Tokyo) and taxonomically classified by Maximowicz (1872) under the genus *Pyrethrum*. Although the plant was drawn in several garden books in the Edo era, it was believed to be extinct; however, it was recently found at the Imperial Palace, Tokyo (Kitamura, 1987). Cytological observations were performed for the first time on two individuals divided and cultivated in pods. The two individuals had the same chromosome number ($2n = 18$) in the root tip meristems. The karyotype of the two individuals was similar and characterized by the presence of a pair of the smallest subtelocentric chromosomes and a maximum of five submetacentric or metacentric chromosomes with satellites. These characteristics are common in *C. seticuspe* f. *boreale* (Makino) H. Ohashi & Yonek. ($2n = 18$) that shows diversity in the strains of distributional areas, as reported by Tanaka (1959). The chromosome number $2n = 9II = 18$ was confirmed at metaphase I of meiosis in pollen mother cells of the two individuals of *C. seticuspe* f. *seticuspe*. The meiotic phase was normal, with no univalent or multivalent chromosomes, chromosome bridges, lagging chromosomes, or micronuclei. The pollen grains of the two individuals showed high stainability (94.7% and 94%). From a cytological point of view, conspecific treatment of the two taxa, f. *seticuspe* and f. *boreale*, is supported.

Key words: Asteraceae, chromosome number, *Chrysanthemum*, horticultural plant, karyotype, meiosis, pollen stainability.

は じ め に

カモメギク *Chrysanthemum seticuspe* (Maxim.) Hand.-Mazz. f. *seticuspe* はキク科キク属の園芸植物で、江戸で栽培されていたものを Maximowicz (1872) が *Pyrethrum seticuspe* Maxim. として新種記載した。Makino (1909) はこれをキクタニギク *C. boreale* (Makino) Makino の変種 var. *seticuspe* Makino

と考え、後に中国に分布するホソバアブラギク *C. lavandulaefolium* (Fisch. ex Trautv.) Makino の変種 var. *seticuspe* Makino としたか[§] (Makino, 1911)、北村 (1967) によると牧野は生きたカモメギクを見たことはなかったようである。一方、中国の植物を採集し記録した Handel-Mazzetti (1936) は、キクタニギクとカモメギクを *Chrysanthemum* 属の同種とみなし、先に記載されたカモメギクを母種

C. seticuspe (Maxim.) Hand.-Mazz. として、キクタニギクを変種 var. *boreale* (Makino) Hand.-Mazz. とした。

カモメギクは明治時代に絶滅したと考えられていたが(北村, 1967), 1986年に皇居に現存していることが明らかになり, 当時のキク属に採用されていた *Dendranthema* の下で *D. seticuspe* (Maxim.) Kitam. と組み替えられ, キクタニギクはその品種 f. *boreale* (Makino) Kitam. とされた(北村, 1987). 現在, キクの属名が *Chrysanthemum* に戻されたことから日本ではカモメギクに冒頭の学名が採用され, キクタニギクは f. *boreale* (Makino) H. Ohashi & Yonek. とされているが(Ohashi and Yonekura, 2004), 最近出版された *Flora of China* では, カモメギクもキクタニギクもホソバアブラギク *C. lavandulifolium* var. *lavandulifolium* のシノニムとされている(Shi *et al.*, 2011).

カモメギクは, 中国, 朝鮮, 日本に広く分布するキクタニギクの葉裂片が極端に狭くなった一変異型と考えられるが, 中国に分布するホソバアブラギクにも葉形が似ていることから, 正体を探るにはこの3分類群の比較が必要である. キクタニギクの染色体数と核型については Tanaka (1959) に詳細な記載があり, ホソバアブラギクの染色体数と核型も報告がある(Taniguchi and Tanaka, 1987; 汪ほか, 1991). しかしカモメギクは, 再発見後も, 皇居の植物ということで染色体数や核型は調べられていなかった. 今回, 国立科学博物館の「皇居の生物相調査第Ⅱ期」の一環としてカモメギクの染色体を観察し, キクタニギクおよびホソバアブラギクとの比較を行ったのでその結果を報告する.

材料および方法

材料のカモメギクは皇居東御苑本丸跡に植栽されていたもので, 2012年11月30日に株分けにより分譲・貸与された. A(登録番号32059), B(同32060)の2個体を富山県中央植物園の圃場で駄温鉢で栽培し, 2013年5~8月に生育期の根を用いて体細胞染色体の観察を行った.

染色体の観察は常法の酢酸オルセイン染色-押しつぶし法を用い, 2 mMの8-ヒドロキシキノリン水溶液で根端を18°C, 4.5時間前処理し, エチルアルコール3:氷酢酸1の混液(Farmer液)で5°C, 20時間以上固定した. 解離は1規定の塩酸と

45%酢酸の1:1混液で60°C, 15秒行い, 室温で水洗後, 2%酢酸オルセイン(合成, 関東化学)で15分染色し, 押しつぶし法でプレパラートを作成した.

減数分裂の観察は花粉母細胞で行った. 予備実験で直径約3 mmの頭花で減数第一分裂~四分前期の細胞が観察されたため, 2013年10月13~18日にかけて直径3 mmの頭花を適宜採取し, 5°Cに冷やしたカルノア変液(エチルアルコール:氷酢酸:クロロホルム=2:1:1, w/w)で1日以上固定, 3~4日後にはFarmer液に置換えし観察まで冷蔵庫中に一時保存した. 減数分裂の観察には, 固定した頭花から2個の小花をスライドグラス上に取り出し, 酢酸オルセイン染色液を1~2滴滴下してすぐカバーグラスをかけ, カバーグラスの上から小花を叩き潰して花粉母細胞を染色液中に遊離させ, 15分染色後, 再度軽く叩いた後, 濾紙に挟んで押しつぶし, ワラップで封入した.

花粉稔性の観察は, スライドグラスに滴下したエチルアルコール中に生の頭花を押し付けて花粉をアルコール中に浮遊させ, アルコールが蒸発後, ラクトフェノール-コットンブルー染色液を滴下し, カバーグラスをかけて軽くアルコールランプで加熱し, 染色を行った. 花粉全体が濃い青色で染まったものを稔性あり, 白く抜けて染まっていないものを不稔とし, 合計1000粒以上を数えて花粉染色性として算定した.

証拠標本は, 国立科学博物館(TNS), 富山県中央植物園(TYM), 東京大学総合研究資料館(TI), 京都大学総合博物館(KYO)に保存される. なお, 観察に使用したカモメギクの生個体は, 皇居東御苑に返却される.

結果および考察

体細胞染色体数は, 個体A, Bとも $2n = 18$ であり(図1A, B), キクタニギク(Tanaka, 1959), ホソバアブラギク(Taniguchi and Tanaka, 1987; 汪ほか, 1991)の染色体数と一致した. なお, ホソバアブラギクには $2n = 36$ の四倍体も報告されている(汪ほか, 1991).

核小体(=仁)形成部位を示唆する付随体や首状, 角状の末端構造は, 小型および中型の中部動原体型または次中部動原体型染色体の短腕に観察されたが(図1A, B, F, G), その数は細胞間で変異があり, 個体Aでは21細胞で平均 2.5 ± 1.7 個(変

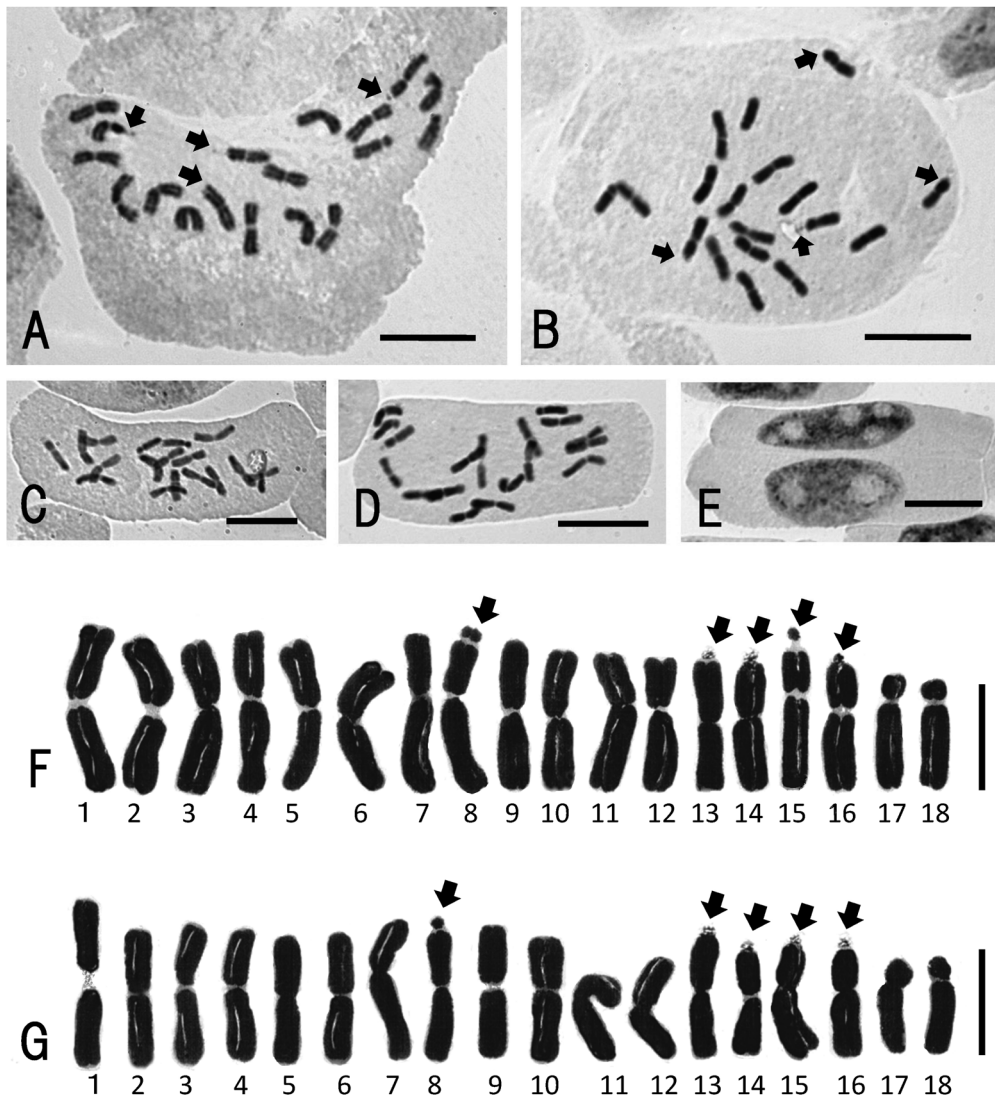


図1. カモメギクの体細胞分裂における染色体. A & C; 個体A (登録番号32059), $2n = 18$. B & D; 個体B (登録番号32060), $2n = 18$. E; 間期核では最大5個の核小体 (仁) が観察された (上). F; 個体Aの染色体 (写真C) の説明描画. G; 個体Bの染色体 (写真D) の説明描画. 矢印は付随体や首状、角状構造を示す. スケールはA~Eが10 μm , F, Gは5 μm を示す.

Fig. 1. Somatic chromosomes of *Chrysanthemum seticuspe* f. *seticuspe*. A & C: Metaphase chromosomes of individual A (acc. no. 32059), $2n = 18$. B & D: Metaphase chromosomes of individual B (32060), $2n = 18$. E: Interphase nuclei showing a maximum of five nucleoli. F: An explanatory drawing of the chromosomes shown in Fig. C. G: An explanatory drawing of the chromosomes shown in Fig. D. Arrows show satellites or NOR-related structures. The scales in Figs. A~E represent 10 μm , and those in Figs. F and G represent 5 μm .

異域0~5個), 個体Bでは38細胞で平均 3.5 ± 1.4 個(変異域0~5個)であった. 小さな付随体や微小な末端構造は, 短縮が進んだ中期染色体像には観察されないことが多いことから, この平均値の差は個体間の質的な差ではなく, 前処理などのプ

レパレーションに起因すると考えられる. 最大で5本の染色体に付随体等が観察されたことは2個体で一致しており, また間期核で観察された核小体の最大個数が5個(図1E)であったことも共通していた.

図1F, Gは、それぞれ個体A, Bで付随体等が最も多く(5個)観察された細胞(図1C, D)の染色体描画を、Tanaka (1959)のキクタニギクの核型配列に従って並べたものである。最小の1対の染色体は次端部動原体型で明瞭に他と区別できること、その他の染色体は長さが漸变的に変化し、中部または次中部動原体型であること、その中で中型および小型の染色体に付随体または首状、角状末端が見られることはキクタニギクと共通していた。Tanaka (1959)によるとキクタニギクには地域的な分化が見られ、付随体が壱岐・対馬系統では3対の染色体に、近畿系統と関東系統では2対の染色体に観察され、核小体形成能については近畿系統でも3対の染色体が有していることが示唆されている。九州産キクタニギクについて、オルセイン染色で0~3個、クロモマイシンA₃で1~4個の付随体しか観察されない場合でも、rDNAプローブを使った*in situ* hybridizationでは6個の染色体にrDNAサイトが確認されていることから(Kondo *et al.*, 1996)、キクタニギクは潜在的に6本の染色体が核小体形成能を持ち、付随体の数の変異はrDNA反復配列の量的変異や核小体形成部位の活性・不活性によって生じていることが推察される。したがって、今回カモメギクで最大5個の付随体が観察されたことも、キクタニギクの変異に含まれると解釈することができる。今後、rDNA-FISHにより、カモメギクの核小体形成部位数を確認してみたい。なお、Honda *et al.* (1997)では、中国湖北省産キクタニギクにおいて8個のrDNAシグナルを検出しており、キクタニギクは中国、朝鮮半島、日本と広い分布域を持つことから、種としてはさらに幅広い変異が存在する可能性がある。

一方、ホソバアブラギクの核型は、付随体を持たない小型の次端部動原体型染色体が1対あること、中型の1対、小型の1対に付随体があることなどでカモメギクの核型と似ていたが、付随体をもつ小型の染色体が次端部動原体型であることや、この染色体対が相対的に短いこと、観察された付随体染色体の数が2~4個であることなどで異なっていた(Taniguchi and Tanaka, 1987; 中田ほか、未発表)。汪ほか(1991)も二倍体ホソバアブラギクの核型分析を行っており、中部動原体型の染色体が14個、次中部動原体型が4個で、次端部動原体型の染色体はないとしているが、染色体像が小さく不鮮明な上に、我々やTaniguchi and Tanaka

(1987)に比べるとかなり短縮した形態であり、個々の染色体の数値データもないため比較はできなかった。

花粉母細胞の減数分裂移動期における染色体対合では、 $2n = 9 \text{ II} = 18$ が個体Aの48細胞で、個体Bでは28細胞で算定され、一価染色体や多価染色体は観察されなかった(図2A, B)。その後の減数分裂過程は正常で、第一分裂中期(図2C)、第一分裂後期(図2D)、第二分裂後期(図2E)、完成小孢子(花粉細胞)(図2F)などを通して遅滞染色体や染色体橋、微小核などの異常は観察されなかった。花粉形成も正常で(図2G)、完成した花粉の稔性は個体Aで94.7%、個体Bで94.0%と高い値を示した(図2H)。

以上をまとめると、カモメギクは染色体数 $2n = 18$ の二倍体で、減数分裂では9個の二価染色体を形成し、正常な小孢子形成を行い、高い花粉稔性を持っている。核型では、種内で地域的な分化が報告されている日本産キクタニギクと共通する特徴を持ち、その変異の中に含まれるが、中国産のホソバアブラギクとは少し異なる点がある。細胞学的見地からは、カモメギクとキクタニギクを同種とみる見解が支持され、カモメギクは野生のキクタニギクの中から選抜された園芸品種であることが推察される。Maximowiczが一変異型である栽培品に対して先に種名を付けてしまったため、本来は基本種となるべきキクタニギクの方に分類学上の品種名がついてしまった例である。

キク属は倍数性の近い種との間で容易に雑種が形成されることから、栽培あるいは献花された園芸菊や、法面緑化に伴って侵入した外来キク属による在来野生種の遺伝的汚染が指摘されている(中田, 2013)。また、公園などで近接して複数の種が植栽されている場合に雑種が生じ、時に両親種を陵駕して繁茂している例を見かける。他殖であるキク属の系統保存を行う際は、こぼれ種による雑種が生じないように慎重に配慮する必要がある。今回材料として提供いただいた皇居東御苑本丸跡天守台前の株は、近縁種との交雑を避け種を将来に残すため、天皇陛下のご発意により道灌新道から平成15年に移植されたものとうかがっている(産経新聞社会部, 2007)。江戸時代から栽培され、現在皇居にしか現存していない貴重な植物が、陛下と宮内庁のご配慮により交雑を起こすことなく保全されてきたことが、細胞学的な観察からも裏付けられた。

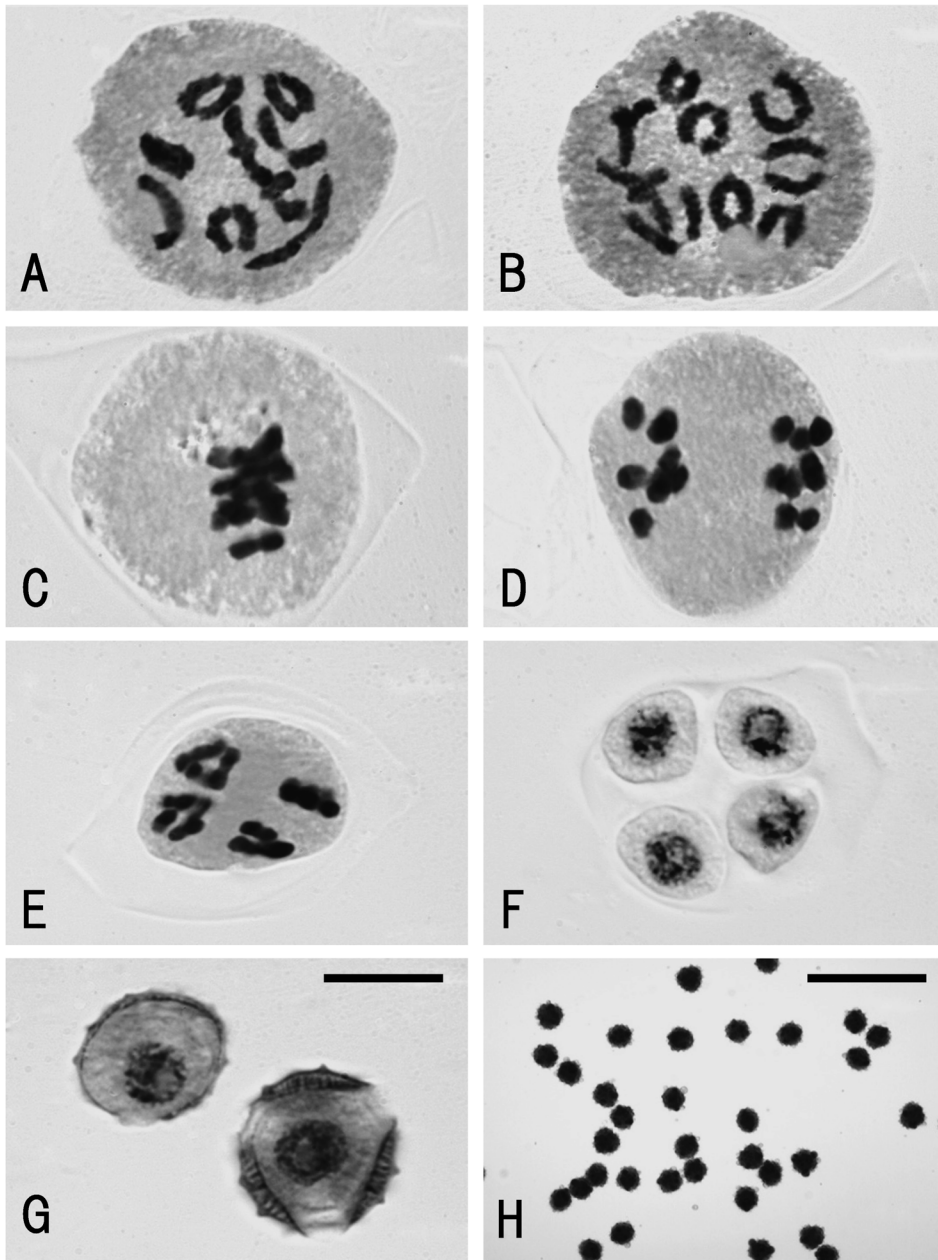


図2. A~G; カモメギクの花粉母細胞における減数分裂過程と花粉. A; 個体A (登録番号 32059) の移動期における染色体対合, $2n = 9 \text{ II} = 18$. B; 個体B (登録番号 32060) の移動期における染色体対合, $2n = 9 \text{ II} = 18$. C; 第一分裂中期. D; 第一分裂後期. E; 第二分裂後期. F; 完成した4個の小孢子 (花粉細胞). G; 若い花粉. H; 完成花粉 (コットンブルー染色). GのスケールはA~Gに対して $10 \mu\text{m}$, Hのスケールは $100 \mu\text{m}$ を示す.

Fig. 2. Meiotic chromosomes in the pollen mother cells of *Chrysanthemum seticuspe* f. *seticuspe* and pollen grains. A: Chromosome pairing at diakinesis in individual A (acc. no. 32059), $2n = 9 \text{ II} = 18$. B: Chromosome pairing at diakinesis in individual B, $2n = 9 \text{ II} = 18$. C: Metaphase I. D: Anaphase I. E: Anaphase II, F: Four microspores (pollen cells). G: Young pollen grains. H: Mature pollen grains stained with cotton blue, showing high stainability. The scale in Fig. G represents $10 \mu\text{m}$ for Figs. A~G. The scale in Fig. H represents $100 \mu\text{m}$.

謝 辞

本調査の実施に便宜を図っていただいた宮内庁庭園課の矢藤光三氏にお礼を申し上げます。

引 用 文 献

- Handel-Mazzetti, H., 1936. *Chrysanthemum. Symborae Sinicae* 7: 1111–1114.
- Honda, Y., A. E. M. Hussein, H. Ogura, K. Kondo, R. Tanaka and T. Shidahara, 1997. Counting sat-chromosome numbers and species characterization in wild species of *Chrysanthemum sensu lato* by fluorescence *in situ* hybridization using pTa71 probe. *Chromosome Science*, **1**: 77–81.
- 北村四郎, 1967. 日本の野生菊の分布に関する報告. 植物分類, 地理, **22**: 109–137.
- 北村四郎, 1987. 合弁花3種について. 植物分類, 地理, **38**: 380–382.
- Kondo, K., Y. Honda and R. Tanaka, 1996. Chromosome marking in *Dendranthema japonicum* var. *wakasaense* and its closely related species by fluorescence *in situ* hybridization using rDNA probe pTa71. *La Kromosomo* **II-81**: 2785–2791.
- Makino, T., 1909. Observations on the Flora of Japan. *Botanical Magazine (Tokyo)*, **23**: 11–23.
- Makino, T., 1911. Observations on the Flora of Japan. *Botanical Magazine (Tokyo)*, **25**: 9–18.
- Maximowicz, C. J., 1872. *Pyrethrum*. Diagnoses des nouvelles plantes du Japon et de la Mandjourie. Onzième décade. *Bulletin de l'Académie Impériale des Sciences de St.-Petersbourg*, **17**: 422–428.
- 中田政司, 2013. 栽培菊と外来ギクによる日本産野生ギクの遺伝的汚染. 山口裕文 (編著), 栽培植物の自然史Ⅱ—東アジア原産有用植物と照葉樹林帯の民族文化. pp. 209–212. 北海道大学出版会, 札幌.
- Ohashi, H. and K. Yonekura, 2004. New combination in *Chrysanthemum* (Compositae–Anthemideae) of Asia with a list of Japanese species. *The Journal of Japanese Botany*, **79**: 186–195.
- 産経新聞社会部, 2007. 皇居の花々 東御苑. 産経新聞出版, 東京. 150 pp.
- Shi, Z., C. J. Humphries, and M. G. Gilbert, 2011. *Chrysanthemum*. In: Wu, Z. Y., P. H. Raven and D.Y. Hong (eds.), *Flora of China* **20–21**: 669–677. Science Press, Beijing and Missouri Botanical Garden, St. Louis.
- Tanaka, R., 1959. On the speciation and karyotypes in diploid and tetraploid species of *Chrysanthemum* I. Karyotypes in *Chrysanthemum boreale* ($2n = 18$). *Journal of Science of the Hiroshima University: Series B, Division 2 (Botany)*, **9**: 1–16, 2 plates.
- Taniguchi, K. and R. Tanaka, 1987. Cytogenetic studies on wild *Chrysanthemum* from China II. Karyotype of *Ch. lavandulaefolium*. *Chromosome Information Service*, **43**: 18–19.
- 汪 勁武・楊 繼・李 懋学, 1991. 国産五種菊属植物の核型研究. 雲南植物研究, **13**: 411–416.