

Bulletin of the Botanic Gardens of Toyama

No. 24

富山県中央植物園研究報告

第 24 号



December, 2018

Botanic Gardens of Toyama

2018 年 12 月

富山県中央植物園

Editor-in-Chief (編集委員長)

Masashi Nakata, Director, Bot. Gard. Toyama

(中田政司 : 富山県中央植物園長)

Managing Editor (主任編集委員)

Kazuomi Takahashi, Bot. Gard. Toyama

(高橋一臣 : 富山県中央植物園)

Editors (編集委員)

Toshiyuki Yamashita, Bot. Gard. Toyama

(山下寿之 : 富山県中央植物園)

Toshinari Godo, Bot. Gard. Toyama

(神戸敏成 : 富山県中央植物園)

Tadashi Kanemoto, Bot. Gard. Toyama

(兼本 正 : 富山県中央植物園)

Explanation of Cover

Leaves of *Begonia versicolor* (Photo by T. Shiuchi)

(表紙の説明)

ベゴニア・ウェルシコロルの葉 (志内利明 撮影)

Bull. Bot. Gard. Toyama	No. 24	pp. 1–46	Toyama	December 28, 2018
-------------------------	--------	----------	--------	-------------------

Chromosome number of *Elatostema lineolatum* var. *majus* (Urticaceae) from Taiwan

Tadashi Kanemoto

Botanic Gardens of Toyama,
42 Kamikutsuwada, Fuchu-machi, Toyama 939-2713, Japan
kane@bgtym.org

Abstract: The chromosome number of *Elatostema lineolatum* var. *majus* was determined to be $2n = 26$ for the first time. As the basic chromosome number for the genus *Elatostema* was reported to be $x = 13$, this taxon is considered to be diploid.

Key Words: chromosome number, *Elatostema lineolatum* var. *majus*, Taiwan, Urticaceae

According to Lin & Wilmot-Dear (2003), the genus *Elatostema* J.R. Forst. & G. Forst. is the second largest genus of the family Urticaceae. It is found in tropical and subtropical regions of Africa, Asia, and Oceania. Weddell (1856) described *E. lineolatum* Wight var. *majus* Wedd. as a variety of *E. lineolatum* Wight. This variety is characterized by its linear-lanceolate leaves, and densely hirsute stems and leaves, whereas var. *lineolatum* has leaves with conspicuously but shallowly crenate or serrate margins. *Elatostema lineolatum* var. *majus* is a monoecious or dioecious subshrub, found at low to medium altitudes, distributed in Nepal, Bhutan, India, China, and Taiwan (Yang *et al.* 1995). In Japan, Yamazaki (1995) reported that *Elatostema lineolatum* var. *majus* was collected from Isl. Okinawa in 1887 and Isl. Amami-oshima in 1912 and 1928. In Japan, *Elatostema lineolatum* var. *majus* was labelled extinct in the Red Data Book 2014 (Ministry of the Environment 2015), because the taxon has not been observed since 1928. The Chromosome number of *E. lineolatum* plants from India has been reported to be $n = 10$ by Guha (1977), $n = 26$ by Chatterjee *et al.* (1989) and $2n = 24$ by Subramanian & Thilagavathy (1988). However, the chromosome number of *E. lineolatum* var. *majus* has not yet been reported. The present study reports on the chromosome number of *E. lineolatum* var. *majus* collected in Taiwan.

Materials and methods

Two individual plants of *E. lineolatum* var. *majus* collected from Xueshan Road, Heping District, Taichung City and another two from Nanfeng Village, Ren'ai Town, Nantou County (Fig. 1) in Taiwan, were used in the present study. Plants were cultivated in pots in a greenhouse in the Botanic Gardens of Toyama. Somatic chromosomes were observed in meristematic cells of root tips. Fresh root tips, 5 mm in length, were pretreated in a



Fig. 1. *Elatostema lineolatum* var. *majus* in its habitat. (Nanfeng Village, Ren'ai Town, Nantou County in Taiwan, alt. 223 m, March 26, 2003). Scale bar indicates 5 cm.

0.002 M 8-hydroxyquinoline solution for 8 h at 20°C and were subsequently fixed in a 3:1 mixture of 99.5% ethanol and glacial acetic acid for 20 h. The root tips were macerated in 1 mol/L hydrochloric acid at 60°C for 10 sec, and the meristematic cells were stained with 1% aceto-orcin. The chromosome preparation was prepared by a squashing method. Voucher specimens were deposited in the herbarium of the Botanic Gardens of Toyama (TYM).

Results and discussion

In all four individuals, the chromosome number was $2n = 26$ (Fig. 2). The chromosome number of the *majus* variety was determined for the first time, and were not in agreement with those of var. *lineolatum* as reported previously.

The $2n = 26$ chromosomes showed gradual variation in size ranging from 2 to 5 μm . Most of them were unclear in centromeric position.

Chromosome number for *Elatostema* species have been reported as follows: $2n = 16$ for *E. suzukii* Yamaz. investigated by Yamashiro *et al.* (2000) and $2n = 26$ for *E. oshimense* (Hats.)

Yamaz., *E. platyphyllum* Wedd. and *E. yonakuniense* Hats. from Ryukyu Isls. investigated by Kanemoto & Yokota (1997). *E. obtusum* Wedd. var. *trilobulatum* (Hayata) W.T. Wang from Taiwan investigated by Kanemoto (2002) and *E. salvinoides* W.T. Wang from China by Kanemoto (2015) also displayed $2n = 26$. They estimated the basic chromosome number of the genus of *Elatostema* to be $x = 13$ and the aforementioned taxa were considered to be diploid. *Elatostema lineolatum* var. *majus* is an additional example of a diploid species.

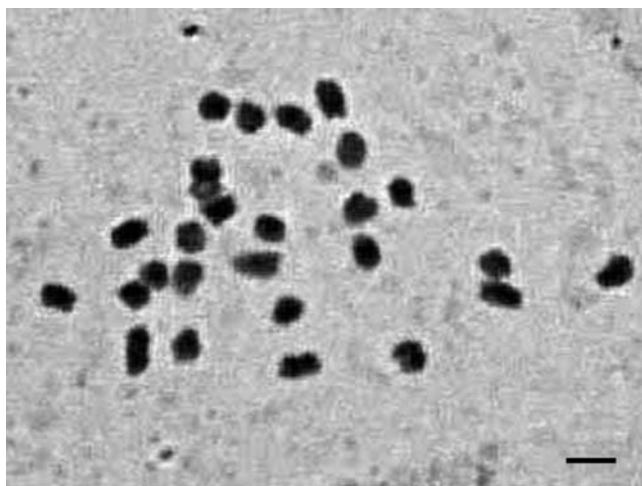


Fig. 2. Somatic chromosomes of *Elatostema lineolatum* var. *majus* ($2n = 26$). Scale bar indicates 5 μm .

兼本 正：台湾産ホソバノキミズの染色体数

ホソバノキミズ (*Elatostema lineolatum* Wight var. *majus* Wedd.) はネパール、インド、ブータン、中国、台湾に分布するイラクサ科ウワバミソウ属の多年草である。台湾の2産地で採集された4個体について染色体数の調査を行ったところ、 $2n = 26$ が算定された。これまで報告されているウワバミソウ属の染色体数では、クニガミサンショウズル (*E. suzukii* Yamaz.) から $2n = 16$ と $2n = 26$ が報告され、アマミサンショウソウ (*E.*

oshimense (Hats.) Yamaz.)、ランダイミズ (*E. platyphyllum* Wedd.)、ヨナクニトキホコリ (*E. yonakuniense* Hats.)、ヒメミズ (*E. obtusum* Wedd. var. *trilobulatum* (Hayata) W.T. Wang) と *E. salvinoides* W.T. Wang から $2n = 26$ が報告されていることから、ウワバミソウ属の基本数は $x = 13$ であり、ホソバノキミズの染色体数は $2n = 26$ の二倍体と考えらえる。
(〒939-2713 富山県富山市婦中町上轡田42 富山県中央植物園)

Literature cited

- Chatterjee, A., Ghosh S. & Roy S. C. 1989. A cytological survey of eastern Himalayan plants III. Cell Chromosome Res. 12: 22–29.
Guha, S. 1977. Cytology of some members of Urticaceae. Proc. Indian Sci. Conger. Assoc.

64: 148–149.

- Kanemoto, T. 2002. Chromosome number of *Elatostema obtusum* var. *trilobulatum* (Urticaceae). Bull. Bot. Gard. Toyama **7**: 27–30.
- Kanemoto, T. 2015. Karyomorphology of *Elatostema salvinoides* W.T. Wang (Urticaceae). Bull. Bot. Gard. Toyama **20**: 1–6.
- Kanemoto, T. & Yokota, M. 1997. Chromosome number of four species of *Elatostema* (Urticaceae) of the Ryukyu. J. Phytogeogr. & Taxon. **45**: 29–31.
- Lin, Q., Friis, I. & Wilmot-Dear, C. M. 2003. *Elatostema* (Urticaceae). In Wu, Z.Y. & Raven, P. H. (eds.), Flora of China, Vol. 5. pp. 127–163. Science Press. Beijing & Miss. Bot. Gard., St. Louis.
- Ministry of the Environment (ed.). 2015. Red Data Book 2014. Threatened Wildlife of Japan. Vol. 8. Vascular Plant. pp. 5. Gyosei corporation, Tokyo. (in Japanese)
- Subramanian, D. & Thilagavathy, A. 1988. Cytotaxonomical studies of south Indian Urticaceae. Cytologia **53**: 671–678.
- Weddell, H. A. 1856. Monographie de la famille des Urticées. Arch. Mus. Hist. Nat., Paris **9**: 1–592.
- Yamashiro, T., Kanemoto, T., Denda, T. & Yokota, M. 2000. Chromosome number variation in *Elatostema suzukii* (Urticaceae), a species endemic to Okinawa Island, the Ryukyus. Acta Phytotax. Geobot. **51**: 21–29.
- Yamazaki, T. 1995. *Elatostema lineolatum* Wight var. *majus* Wedd. is found in the Ryukyus. J. Jpn. Bot. **70**: 176. (in Japanese)
- Yang, Y.P., Shih, B.L. & Liu, H.Y. 1995. A revision of *Elatostema* (Urticaceae) of Tawian. Bot. Bull. Acad. Sin. **36**: 259–279.

アオキの種子発芽と雌雄実生の開花特性

志内利明 *・高橋一臣

富山県中央植物園 〒939-2713 富山県富山市婦中町上轡田 42

Seed germination and sexual differences in flowering of seedlings in *Aucuba japonica*

Toshiaki Shiuchi * & Kazuomi Takahashi

Botanic Gardens of Toyama,
42 Kamikutsuwada, Fuchu-machi, Toyama 939-2713, Japan
*t-shiuchi@bgtym.org (corresponding author)

Abstract: Seed germination characteristics and flowering properties of male and female seedlings of *Aucuba japonica*, an evergreen dioecious Japanese shrub, were examined in an experimental greenhouse in the Botanic Gardens of Toyama, Japan. The rate of germination (35.5%) of seeds in which the pericarp was removed did not differ significantly from that of seeds with an intact pericarp (32.2%). Germination rates of intact seeds of *A. japonica* from Tokushima, Toyama, and Kōchi prefectures were examined monthly from April 2000 to October 2001. Seeds from the three localities started germinating in November 2000, after a half year-long dormancy period and germinated continuously until July 2001. The final germination rates differed significantly between the prefectures as follows: Tokushima, 33.9%; Toyama, 78.6%; and Kōchi, 45.7%. Chromosomal observations using root tip cells excised from the seedlings revealed that populations of *A. japonica* from the Tokushima and Toyama prefectures were tetraploid ($2n = 32$), while those of Kōchi were found to be diploid ($2n = 16$). Comparisons were drawn between the flowering properties of seedlings based specifically on whether or not they were transplanted into pots after germination. Under both conditions the first occurrence of flowering of the seedlings which had been sown in April 2000 were observed in 2003. In both cases, the number of male flowering seedlings exceeded that of females in the first flowering year. In potted seedlings, the differences in flowering number between male and female seedlings gradually decreased and no significant differences were observed in the years 2006 and 2007. On the other hand, in the non-transplanting condition characterized by high individual density, the number of female seedlings that flowered was approximately half to one-third of that of male seedlings, and this remained the same in every year from 2003 to 2007.

Key Words: *Aucuba japonica*, diploid, evergreen dioecious shrub, flowering property, male and female, seed germination, pericarp, seedlings, tetraploid

日本産アオキ属植物には、本州の太平洋側と四国北部に分布し、幹が直立し高さ 3 m ほどで四倍体 ($2n = 32$) のアオキ *Aucuba japonica* Thunb. var. *japonica* と、同じく四倍体で本州の日本海側と北海道南部に分布し、葉はやや小さく全体に這う性質のあるヒメアオキ *A. japonica* Thunb. var. *borealis* Miyabe et Kudô、四国南部、中国地方西部から九州、琉球列島に分布し、葉は大きく樹高 5 m に達する二倍体 ($2n = 16$) のナンゴクアオキ *A. japonica* Thunb. var. *ovoidea* Koidz. の 1 種 3 変種が区別されてきた (Kurosawa 1971, 1976, 1979, 1981, Noshiro 1999)。一方、東馬 (2017) は四倍体のアオキと二倍体のナンゴクアオキは形態的に区別できないとして、アオキと多雪地帯に生じる生態型のヒメアオキの 2 変種のみを認めている。

アオキ類の種子発芽については、アオキの種子が約 40 日間の乾燥条件下で発芽能力を失うこと (中島 1919) や、重力散布による種子よりも鳥散布された種子の方が発芽率が高いこと (伊東ら 1993)、ヒヨドリの消化器官を通過したアオキの種子と人為的に果肉を除去した種子の発芽率に有意な差がないこと (Fukui 1995)、ヒメアオキでは、果肉の有無が発芽フェノロジーにわずかな違いを生じさせるが、実生の生存率に影響しないこと (山口・林田 2009) が報告されている。また、アオキミタマバエ *Asphondylia aucubae* Yukawa & Ohsaki, 1988 に寄生されたアオキやヒメアオキの成熟した果実の中には種子がないことが知られている (Yukawa & Ohsaki 1988)。

日本産アオキ類は雌雄異株植物であり、アオキの二倍体型には XY 型の性染色体が確認されている (Tsusaka et al. 2007)。また、アオキの開花期には雄が早く開花し始め、開花から 3 週間ほどで雄と雌が最も多く開花することが知られている (Abe 2001)。Kume & Ino (2000) は、新潟県の 3 地点の調査で実生が初めて開花するのに要した最短期間は 4 年

であったが、15 年経っても一度も開花することのない個体があることを報告している。しかし、これまでにアオキ類の種子発芽から開花開始まで追跡調査されたことはなく、実生の雌雄による開花特性の違いも明らかにされていない。そこで、栽培環境下でのアオキの種子発芽および発芽後の成長過程における雌雄の開花特性を調査した。

材料と方法

種子発芽

果肉の有無がアオキの種子発芽に与える影響を調べるため、1997 年 4 月 5 日に富山県中新川郡立山町で 4256 個の種子 (果実) を採集した。アオキの果実の中には 1 個の種子があることから、果肉を付けたままの 2040 個の種子と、果肉を除去した 2216 個の種子を用意し、発芽試験を行った。材料を採集した産地は日本海側の標高 230 m の地域であることから、Noshiro (1999) からはヒメアオキ var. *borealis* の分布域に該当する。しかし、種子を採集した個体には東馬 (2017) の「丈が低く、幹は市直立せず斜上し、葉が小型、若芽や花序の伏毛がやや多い」というヒメアオキの形態的特徴が見られなかったこと、および日本海側に分布するものは紀伊半島や四国東部に分布するアオキと同じハプロタイプを持つことから (Ohi et al. 2003)、今回の材料はアオキ var. *japonica* と同定された。

発芽試験には、赤玉土小粒 : 鹿沼土小粒 : バーミキュライト = 1 : 1 : 0.2 の混合土を用いた。容器は縦 505 mm × 横 350 mm × 高さ 100 mm の育苗箱を用い、覆土約 1 cm を施して播種し、富山県中央植物園内の無加温のビニールハウス内で天井面だけに遮光率 40% の遮光幕を設置して管理した。果肉有り、無しの各試験区とも 1 つの育苗箱には約 140 粒の種子を播種し、これを各 15 箱設置した。1997 年 4 月の播種から翌年の 6 月までの観察で、表土から子葉が見えた時点で発

芽したとみなし、その個体数を毎月 1 日に数えて発芽率を算定した。果肉が有る場合と無い場合との種子の発芽率を χ^2 検定を用いて検定した。

発芽率の地域差とフェノロジー

2000 年 4 月 2 日に徳島県名西郡神山町で 112 個、2000 年 4 月 9 日に富山県中新川郡立山町で 140 個、2000 年 4 月 3 日に高知県高岡郡窪川町で 140 個の種子をそれぞれ 3 個体以上の株から採集したものを実験に用いた。種子は採集後、約 5°C の冷蔵庫に保管し、2000 年 4 月 29 日に果肉を付けたまま上記の種子発芽試験と同様の用土および無加温ビニールハウス内で管理した。ただし、1 つの育苗箱には 70 個の種子を播種した。発芽は表土から子葉が見えた時点で発芽したとみなし、播種から 2001 年の 10 月まで毎月 1 日に発芽した個体数を数えた。

染色体数

調査集団の染色体の倍数性を確認するため、各産地の発芽した実生について各 2 個体ずつ根端分裂組織を用いて常法の押し潰し法で染色体数を確認した。実生個体はそのまま継続して開花特性の観察材料としたため、証拠標本は残してない。また、個体のマーキングによる追跡調査を行ってないため、染色体

を観察した材料の雌雄性は不明である。

実生の開花特性

発芽後の雌雄の開花特性は、発芽特性調査と同じ富山県中新川郡立山町産で多数採集した種子で調査した。1 つの育苗箱に 70 個の種子を播種した 8 箱で、種子総数は 560 個である。異なる生育環境で観察するため、2 つの育苗箱から 2002 年 5 月に 5 号の駄温鉢へ 1 個体ずつ 89 個体を植え替えて個体別に栽培した試験区と、植え替えず 6 つの育苗箱を播種からそのまま高い密度 (4 本 / 101 cm²) で栽培した試験区とに分け、それぞれ 2007 年春まで毎年 5 月に開花した個体の雌雄性を調べた。調査期間終了後に各試験区の性比が 1 : 1 となるか二項検定により検定した。

結果および考察

種子発芽と果肉の有無

一般に果肉は種子発芽に影響を及ぼすことが知られていて、ナナカマド *Sorbus commixta* Hedl. では果肉や果肉から抽出した物質が種子発芽を抑制し、果実が鳥に被食され、種皮に傷が付くことにより発芽率が高くなると報告されている (Yagihashi *et al.* 1998)。伊東ら (1993) は、アオキには重力散布される種子と鳥散布される種子があり、発

Table 1. Germination rates of *Aucuba japonica* seeds in which the pericarp was kept intact or removed. Seeds were collected in Tateyama-machi, Nakaniikawa-gun, Toyama pref., on Apr. 5, 1997.

	Number of seeds examined	Total number of seeds germinated (Apr. 5, 1997—Oct. 1, 1998)	Germination rates (%)
Pericarp removed seeds	2216	776	35.5 *
Intact seeds with pericarp	2040	658	32.2 *

* Significant difference was not found (Chi-squared test. $\chi^2=3.6$, $p=0.057$).

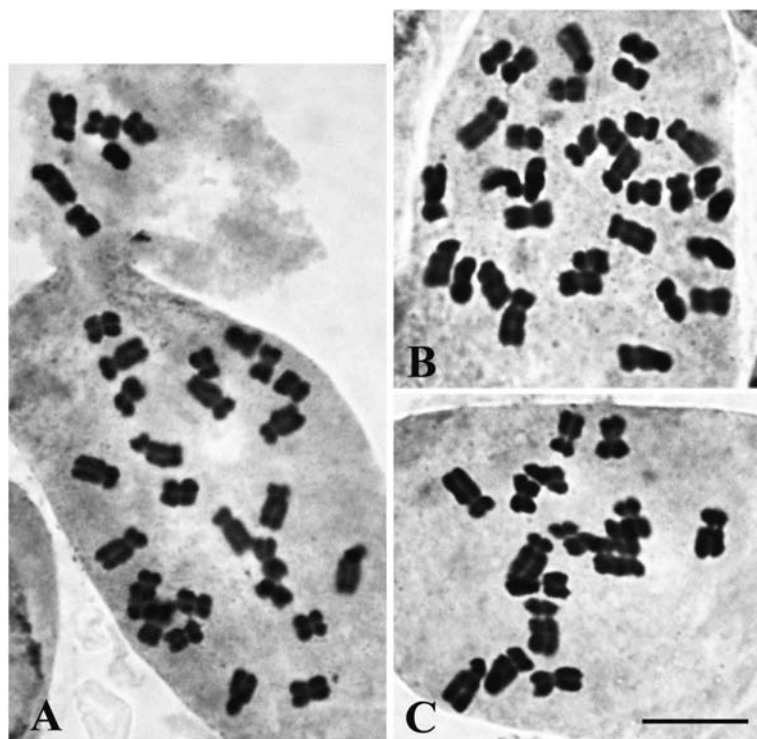


Fig. 1. Somatic metaphase chromosomes of *Aucuba japonica* collected from three localities. A; Kamiyama-machi, Myozai-gun, Tokushima pref., $2n = 32$. B; Tateyama-machi, Nakaniikawa-gun, Toyama pref., $2n = 32$. C; Kubokawa-machi, Takaoka-gun, Kōchi pref., $2n = 16$. Bar indicates $10\ \mu\text{m}$.

芽率は鳥散布された種子が高いこと示したが、その理由として果肉内の発芽阻害物質とアオキミタマバエの種子への寄生が考えられるとしている。しかし、山口・林田(2009)によると、野外の調査地に3カ所ずつ設置した播種実験区でのヒメアオキの発根率は、果肉の有無によらず1999年播種では8割以上、2000年播種では9割以上と非常に高く、果肉の有無が発芽フェノロジーにわずかな違いを生じさせたものの、実生の生存率に影響しなかった。今回、無加温のビニールハウス内で果肉付き種子と除去種子を播種実験した結果、果肉付きの種子は発芽率32.2%、果肉除去種子の発芽率は35.5%となり(Table 1)、両者に有意差は認められなかった。これは山

口・林田(2009)の報告と一致するものであり、アオキでは果肉が種子の発芽を抑制することはないと考えられる。

染色体数

染色体数は徳島県名西郡神山町産と富山県中新川郡立山町産が $2n = 32$ (四倍体)、高知県高岡郡窪川町産が $2n = 16$ (二倍体)であった(Table 2、Fig. 1)。この結果は、Ohi *et al.* (2003)による、アオキの倍数体が四国・中国地方を境に、西に二倍体、東に四倍体が分布するという報告と一致した。アオキ倍数体の境界を詳細に調査した津坂ら(2011)によると、徳島県神山町は四倍体の分布域であるが二倍体が隔離的に分布していると報告して

Table. 2. Germination rate of *Aucuba japonica* seeds from three populations and the chromosome number of the seedlings.

Locality	Number of seeds sown	Total number of seeds germinated (Apr. 29, 2000–Oct. 1, 2001)	Germination rates (%)	Chromosome number*
Kamiyama-machi, Myozai-gun, Tokushima pref. alt. 90 m	112	38	33.9	2n=32
Tateyama-machi, Nakaniikawa-gun, Toyama pref. alt. 230 m	140	110	78.6	2n=32
Kubokawa-machi, Takaoka-gun, Kochi pref. alt. 350 m	140	67	47.9	2n=16

*Two seedlings were counted.

いる。しかし、今回徳島県名西郡神山町で採集した種子の実生は四倍体であった。

発芽率の地域差

徳島県名西郡神山町産種子 112 個、富山県中新川郡立山町産種子 140 個、高知県高岡郡窪川町産種子 140 個の発芽率は、それぞれ 33.9%、78.6%、47.9% となり (Table 2)、アオキの発芽率は採集した集団で異なっていた。また、同じ集団で採集した富山県中新川郡立山町産の果肉付き種子の発芽率も 1997 年と 2000 年でそれぞれ 35.5%、78.6% となり、採集年によっても大きく発芽率が違った。

Yukawa & Ohsaki (1988) によると、アオキミタマバエに寄生されると果実はしばしばいびつな形状で部分的に赤くなり、完全に成熟した虫えいには種子がない。伊東ら (1993) は、調べた 8 本のアオキの全結実数 6916 個の 36% が虫えい形成果で、その 98.8% については発芽しなかったことを報告した。山口・林田 (2009) は調査したヒメアオキ個体群では全果実のうち 1998 年生は約 6 割、2000 年生では約 8 割を虫えい形成果が占め、その虫えい形成果の種子含有率は約 1 割から最大でも 2 割であり、アオキミタマバエによる虫えい形成が種子生産を大きく減少させていたと

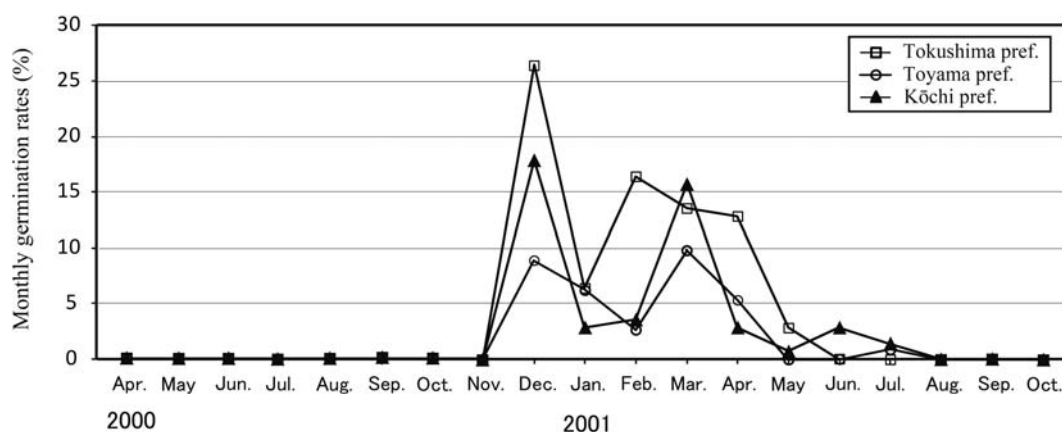


Fig. 2. Monthly germination rate of *Aucuba japonica* seeds which were collected from three localities.

Table 3. Differences in flowering of *Aucuba japonica* seedlings grown under different conditions from the year 2000 to 2007.

Cultivated condition of seedlings after germination	Number of seedlings examined	Number of seedlings flowered and their sexuality (%)		Number of seedlings unflowered
Potted	89	Male	45 (50.6)	0
		Female	44 (49.4)	
Non-potted	330	Male	147 * (66.8)	110 **
		Female	73 * (33.2)	

* Significant difference in sex ratio of males and females ($p < 0.01$ by Binomial test).

** Including two individuals died.

している。今回実験に用いた3地点の種子と1997年に採集した富山県中新川郡立山町の種子にはいずれも整形果と不整形果が含まれていたが、両者を選別せずに播種している。従って、採集地や採集年で発芽率が大きく異なったのは、アオキミタマバエの寄生が関係した可能性がある。

発芽フェノロジー

今回3集団から採集したアオキの種子は、播種から約6ヶ月経った11月から子葉が地上に出始め、翌年の7月までには出揃い、調査期間中に枯死する個体はなかった。これは関西地区林業試験研究機関連絡協議会育苗部会(1980)による、当年秋から発芽し、翌春の5～6月には出揃うとした報告と同様の結果となった。各月ごとの発芽率をみると、富山県中新川郡立山町産の種子の12月の発芽率は26.4%、1月には下がって6.4%となり、2月には再度16.4%と高くなり、3月から5月は13.6%、12.9%、2.9%と次第に下がっていった(Fig. 2)。徳島県名西郡神山町の種子発芽率は12月には8.9%で、1月から2月は6.3%、2.7%と下がり、3月には9.8%

と2回目の多数発芽するピークを作り、4月は5.4%となった。高知県高岡郡窪川町産の種子も発芽率が高くなる時期が2回あり、12月の発芽率は17.9%と高く、1月、2月に2.9%、3.6%、3月に再度15.7%と上昇し、4月以降は2.9%、0.7%、2.9%、1.4%と7月まで低い発芽率であった。今回観察したアオキの発芽フェノロジーから、アオキの種子は、落葉樹が葉を落とし、夏緑性の草本の地上部がない冬期間に子葉を展開し始めること、アオキの子葉の展葉の傾向として、12月に多数展葉し、1月には低下した後、2月もしくは3月に再び多く展葉するというように実生展葉数が多くなる時期が2回あることが確認された。これは、果肉付き種子と果肉除去種子のいずれにおいても12月に実生の子葉展葉数が多くなり、1月には減少し、4月には再度高くなるという2000年播種の結果(山口・林田 2009)と同様であった。しかし、山口・林田(2009)の1999年播種の結果では、12月に多数の実生の子葉が展葉するものの、その後再び実生の子葉展葉数が多くならないことから、今後アオキの種子発芽から子葉の展葉に至る過程の詳細な調査が必要である。

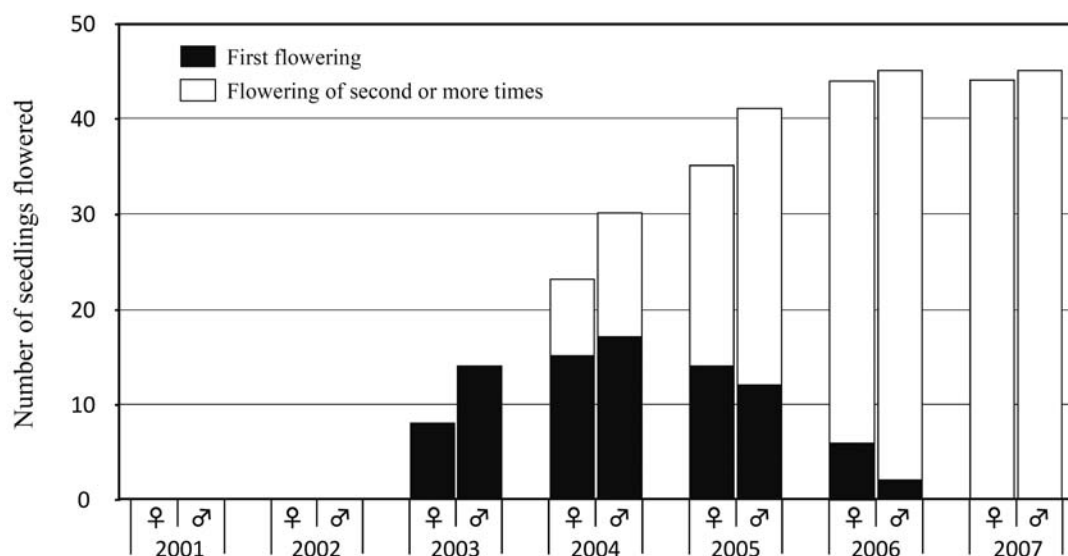


Fig. 3. Number of seedlings of *Aucuba japonica* that flowered when cultivated under pot conditions. Seeds were sown in 2000.

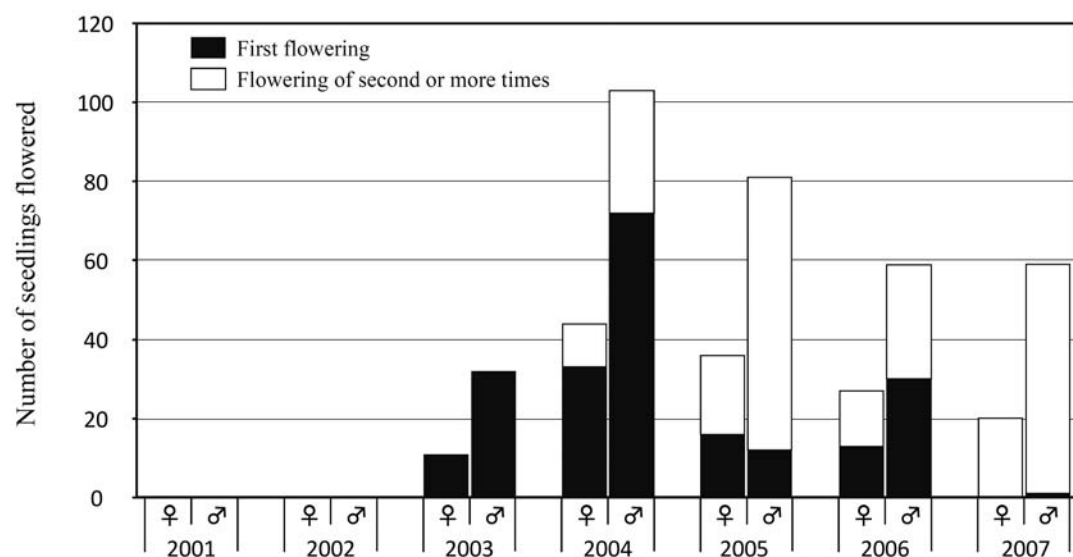


Fig. 4. Number of seedlings of *Aucuba japonica* that flowered when cultivated under non-potted condition. Seeds were sown in 2000.

雌雄実生個体の開花特性

富山県中新川郡立山町産の種子から育ったアオキの実生の開花年齢とその性表現を追跡した結果、個体別に鉢栽培した試験区の 89 個体は途中で枯死する個体はなく、2006 年までにすべての個体が 1 回以上開花し、最終的に開花数は雄：雌＝45：44 で性比は 1：1 となった (Table 3)。播種後そのまま育苗箱で栽培した試験区では、調査期間中の開花個体数は、最終的に雄 147 個体、雌 73 個体となり、雄の方が雌の 2.0 倍多く開花し、2007 年に 110 個体は未開花で、そのうち 2 個体が枯死した。

アオキ二倍体については XY 型の性染色体が確認されていることから (Tsusaka *et al.* 2007)、理論上、雄雌の性比は 1：1 であると考えられる。一方で、アオキ四倍体については雄個体には性染色体の証拠となるものは観察されなかったと報告されている (Sinoto 1929)。Ohi *et al.* (2003) によると筑波山と加波山は四倍体のアオキの分布域であるが、Abe (2002) は筑波山と加波山に設定した両方のコドラート内で開花したそれぞれのアオキの雌雄の性比は 1：1 で有意差は認められなかったとしている。本実験で種子を採集した富山県中新川郡立山町の同じ集団で 1998 年に 30 m × 20 m のコドラートを 2 つ設定して開花したアオキの性比を調べたところ、雄 190 個体、雌 197 個体となり、雌雄の性比は 1：1 であった (二項検定、 $p>0.05$)。これらのことから、アオキ四倍体の自然集団における性比も 1：1 であると考えられる。ところがアオキ四倍体の育苗箱で栽培した試験区の開花実生は性比 1：1 から有意差が認められ (二項検定、 $p<0.01$)、調査した 330 個体に占める開花雄個体は 44.5% であるのに対して、雌個体は 22.1% と約 1/2 であった。このことは雌個体の半分以上が未開花であることを示唆している。アオキ四倍体は性特異的 SCAR マーカーを用いて雌雄を識別可能なことから

(Maki 2008)、今後開花に至らないアオキ四倍体の実生について雌雄性を確かめる必要がある。

個体別に鉢栽培した試験区では、雄雌ともに播種後 3 年目の 2003 年から開花が始まり、この年には雄 14 個体、雌 8 個体と雄個体の方が初開花個体数が多く、4 年目も雄 17 個体、雌 15 個体と雄個体が多かった (Fig. 3)。しかし、播種後 5 年目からは雌雄で初開花個体数がそれまでとは逆転し、雄 12 個体、雌 14 個体となり、6 年目には雄 2 個体、雌 6 個体が開花して雄雌ともにすべての個体が開花した。育苗箱で栽培した試験区では、播種後 3 年目の 2003 年の初開花個体数は雄 32 個体、雌 11 個体で雄が雌より 2.9 倍多く、4 年目は雄 72 個体、雌 33 個体、5 年目は雄 12 個体、雌 16 個体、6 年目は雄 30 個体、雌 13 個体、7 年目は雄 1 個体のみで、初開花した雌個体はなかった (Fig. 4)。初開花するアオキ実生の個体数は 3 年目と 4 年目では雄の個体数が 2 倍以上であったものの、5 年目には雌個体が多くなり、さらに 6 年目には雄の初開花数が多くなるなど、雌雄の初開花個体数は年により変動した。各年毎の開花数は発芽から翌年の 2004 年に雌雄ともに最多となり、その後は次第に減少した。また、発芽から一貫して雄の開花数が多く、雄の開花数は雌の 2.2 ～ 3.0 倍で推移した。

今回の発芽後の実生の開花特性調査から、雄個体より雌個体の方が発芽後の初開花年が遅れることや、生育環境が厳しいと考えられる高い密度で栽培した試験区では雌個体は雄個体の半分ほどしか開花しないことが分かった。Kume & Ino (2000) は、アオキとヒメアオキの成熟した雌の最大シュート基部直径が雄より小さいのは、果実生産の強い負荷によるものかもしれないとしている。アオキの場合、雌個体の方が雄個体よりも種子や果実生産に多くの資源配分が必要なため、雌個体は十分な個体サイズに達するまで開花しないよ

う遺伝的に決定されているのかもしれない。今後、実生の個体サイズを計測して雌雄間の成長と開花特性について詳細に調査する必要がある。

この調査研究の一部は、平成10年度公益財団法人日本科学協会笹川科学研究助成を受けて実施した。

引用文献

- Abe, T. 2001. Flowering phenology, display size, and fruit set in an understory dioecious shrub, *Aucuba japonica* (Cornaceae). *Am. J. Bot.* **88**: 455–461.
- Abe, T. 2002. Flower bud abortion influences clonal growth and sexual dimorphism in the understory dioecious shrub *Aucuba japonica* (Cornaceae). *Ann. Bot.* **89**: 675–681.
- Fukui, A. W. 1995. The role of the brown-eared bulbul *Hypsypetes amaurotis* as a seed dispersal agent. *Res. Popul. Ecol.* **37**: 211–218.
- 伊東啓太郎・伊藤 哲・玉泉幸太郎. 1993. アオキ類の種子散布様式と発芽特性. 日林九支研論集 **46**: 109–110.
- 関西地区林業試験研究機関連絡協議会育苗部会. 1980. 樹木のふやし方. -タネ・ホトリから苗木まで-. 340 pp. 農林出版株式会社, 東京.
- Kume, A. & Ino, Y. 2000. Differences in shoot size and allometry between two evergreen broad-leaved shrubs, *Aucuba japonica* varieties in tow contrasting snowfall habitats. *J. Plant Res.* **113**: 353–363.
- Kurosawa, S. 1971. Cytotaxonomical studies on the genus *Aucuba*. *J. Jap. Bot.* **46**: 231–238.
- Kurosawa, S. 1976. Additional notes on cytology of *Aucuba japonica*. *J. Jap. Bot.* **51**: 136–137.
- Kurosawa, S. 1979. Notes on chromosome numbers of Spermatophytes (2). *J. Jap. Bot.* **54**: 155–160.
- Kurosawa, S. 1981. Notes on chromosome numbers of Spermatophytes (3). *J. Jap. Bot.* **56**: 245–251.
- Maki, M. 2008. Development of SCAR markers for sex determination in the dioecious shrub *Aucuba japonica* (Cornaceae). *Genome* **52**: 231–237.
- 中島庸三. 1919. 乾燥ニ耐ヘザル種子. 植物雑誌 **391**: 169–172.
- Noshiro, S. 1999. *Aucuba*. In Iwatsuki, T., David E. Boufford, D. E. & Ohba, H. (eds.), *Flora of Japan*. IIC. p. 254. Kodansha, Tokyo.
- Ohi T., Kajita, T. & Murata, J. 2003. Distinct geographic structure as evidenced by chloroplast DNA haplotypes and ploidy level in Japanese *Aucuba* (Aucubaceae). *Am. J. Bot.* **90**: 1645–1652.
- Sinoto, Y. 1929. Chromosome studies in some dioecious plants, with special reference to the allosomes. *Cytologia* **1**: 109–191.
- 東馬哲雄. 2017. アオキ科. 大橋広好・門田裕一・木原 浩・邑田 仁・米倉浩司(編). 改訂新版日本の野生植物 4. p. 265. 平凡社, 東京.
- Tsusaka, M., Ikeda, H. & Hoshino, T. 2007. Karyomorphological study of diploid races of *Aucuba japonica* Thunb. (Cornaceae) in southern Japan, to confirm the presence of sex chromosomes. *J. Jpn. Bot.* **82**: 126–129.
- 津坂真智子・山本伸子・池田 博・堤原健太・小林史郎・小川 誠・星野卓二. 2011. アオキ(アオキ科)の細胞地理学的研究 – 特に境界付近の分布について –. *Naturalistae* **15**: 13–22.

- Yagihashi, T., Hayashida, M. & Miyamoto, T. 1998. Effects of bird ingestion on seed germination of *Sorbus commixta*. *Oecologia* **114**: 209–212.
- 山口良彦・林田光祐. 2009. アオキミタマバエによる虫えい形成がヒメアオキの実生更新に及ぼす影響. 日林誌 **91**: 159–167.
- Yukawa, J. & Ohsaki, N. 1988. Separation of the *Aucuba* fruit midge, *Asphondylia aucubae* sp. nov. from the *Ampelopsis* fruit midge, *Asphondylia baca* Monzen (Diptera, Cecidomyiidae). *Kontyu Tokyo* **56**: 365–376.

中国雲南省大圍山における *Begonia versicolor* の生息地と個体群に関する 記録、特に耐寒性と分布様式について

志内利明^{1)*}・魯元学²⁾・李景秀²⁾・管開雲²⁾・高橋一臣¹⁾・中田政司¹⁾

¹⁾ 富山県中央植物園 〒939-2713 富山県富山市婦中町上轡田 42

²⁾ 中国科学院昆明植物研究所昆明植物園 650204 中国雲南省昆明市藍黒路 132

Notes on the habitat and population of *Begonia versicolor* on Dawei Mountain, Yunnan Province, China, with special reference to cold resistance and spatial distribution patterns

Toshiaki Shiuchi^{1)*}, Yuanxue Lu²⁾, Jingxiu Li²⁾, Kaiyun Guan²⁾,
Kazuomi Takahashi¹⁾ & Masashi Nakata¹⁾

¹⁾ Botanic Gardens of Toyama,
42 Kamikutsuwada, Fuchu-machi, Toyama 939-2713, Japan
*t-shiuchi@bgty.org (corresponding author)

²⁾ Kunming Botanical Garden, Kunming Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences,
132 Lanhai Road, Kunming, Yunnan. 650204, P. R. China

Abstract: The habitat conditions and population properties of *Begonia versicolor* on Dawei Mountain, Yunnan Province, China were surveyed to obtain basic information for in situ conservation. The plants were growing on north-facing slopes near a roadside and on the forest floor. The vegetation present in the forest habitat in which *B. versicolor* occurs was found to be secondary forest dominated by *Lithocarpus hancei* and *Castanopsis clarkei* which stood over 30 meters in height. Measurement of soil acidity revealed a pH of 4.5. Chlorophyll content differed significantly between variegated and non-variegated areas of the leaves. Distribution patterns of the individuals were analyzed by using m^*/m index and ω index. Several loose colonies were formed showing a random distribution. The distribution pattern in the colony was uniform in terms of habitat of the population. Air temperature at the habitats of the plants was measured using a data logger from March 2, 2013 to March 1, 2014. Annual mean, the highest, and the lowest temperatures (°C) were 12.7, 35.8, and -0.8, respectively. It is noteworthy that *B. versicolor* on Dawei Mountain did not display any growth damage after snow cover for 10 days in December 2013.

Key Words: air temperature, *Begonia versicolor*, cold resistance, Dawei Mountain, habitat condition, population structure, soil pH, spatial distribution pattern, vegetation, Yunnan Province

シュウカイドウ属 *Begonia* は中国に 173
種余りが知られていて雲南省南東部と広西壮

族自治区南西部に最も集中して分布している
(Gu *et al.* 2007)。中国雲南省には 101 種が

分布し、そのうち 72 種が固有種となっている(管ほか 2005)。

Begonia versicolor Irmsch. (中国名: 変色秋海棠) は、雲南省南東部の標高 1800 ~ 2100 m に固有な種で、湿った林床や河岸などに分布し(Gu *et al.* 2007)、葉の葉脈の間には連続的または不連続的に斑が入り、その色は通常、白や紫褐色で(崔・管 2013)、Tian *et al.* (2018) は *B. versicolor* の葉を色や配色の違いによって 15 以上のパターンに分類できるとしているが、観葉植物として用いられているのはその一部にすぎない(Chun *et al.* 2018)。

Begonia versicolor は栽培下でも成長が遅いことが指摘されているが(管ほか 2005)、田ほか(2001)は、播種、挿し芽および組織培養による増殖方法に成功し、その苗の栽培には透明なプラスチックフィルムで覆って高い湿度に保つとよりよく成長するとしている。また、李ほか(2005)は平均空中湿度 75% の栽培環境下では葉は大きくて色が薄くなるが、60% 以下の栽培下では葉が小さくて厚く、濃い色になる特徴があるとしている。このように、栽培環境下での *B. versicolor* の生育状況の報告はあるものの、自生地での調査報告は少ない。最近、Chun *et al.* (2018) が自生地 4 集団を調べ、他種より遺伝的多様性が比較的低く、遺伝的変異は集団間より集団内の方が大きいことを報告しているが、生息地環境や個体群構造に関する報告は今もって得られていない。

今回、本種の保全に資する基礎的調査として、生育地の植生の概要、個体群の分布様式、土壌 pH、気温と照度の年変化などを調べたので、その結果を報告する。

調査方法

現地調査は 2013 年 3 月 2 日と 2014 年 3 月 1 日に実施した。調査地は中国雲南省紅河ハニ族イ族自治州屏辺ミャオ族自治県の大圍

山で、標高 2100 m、北緯 22°54'39.2"、東経 103°41'47.0"、北東向きの傾斜 12° の斜面である。*Begonia versicolor* の自生する林内に 20 m × 20 m のコドラートを設定して、階層ごとに出現種の被度・群度をブラウン-ブランケの植物社会学的方法(鈴木 1971)に従って記録した。自生地は国家級自然保護区に指定されていて植物の採集が禁じられているため、現地調査時や写真撮影により後日同定できた種を記録することで林内を構成する各階層の主要な優占種を網羅したが、コドラート内に稀産する落葉樹や同定の困難な種は除外している。

土壌 pH はアズワン社製ツイン pH メーター AS-211 を用い、植生調査したコドラート内で表層土壌を 5 カ所測定して、その平均値を求めた。

オンセット社(Onset Computer Corporation)の HOBO データロガー(UA-002-64 Pendant Temp/Light)を設置して 2013 年 3 月 2 日から 2014 年 3 月 1 日までの 1 年間、30 分毎に測定し、日毎の平均気温を求めた。また、1 日の各計測値の最高値と最低値を各日の最高気温と最低気温とし、照度は 1 日の最高値を示した。データロガーは苔むした直径約 20 cm の倒木の上に設置したが、約 30 cm 離れた地点には *B. versicolor* の比較的大きい個体が生育していた(Fig.1F)。

葉の白斑のある部分とない部分の葉緑素濃度を比較するため、生葉表面の白斑部分と緑色もしくは濃赤色部分(緑色部分)について各 20 ヶ所ずつコニカミノルタ葉緑素計 SPAD-502 を用いて測定した。計測に用いたのは自生地の 2 個体と中国科学院昆明植物研究所昆明植物園で栽培する 1 個体である。白斑部分と緑色部分の計測した値(SPAD 値)を t 検定を用いて検定した。

Begonia versicolor 個体群の分布様式を調べるため、植生調査した二次林内に 10 m × 10 m のコドラートを設定し、各個体を葉色

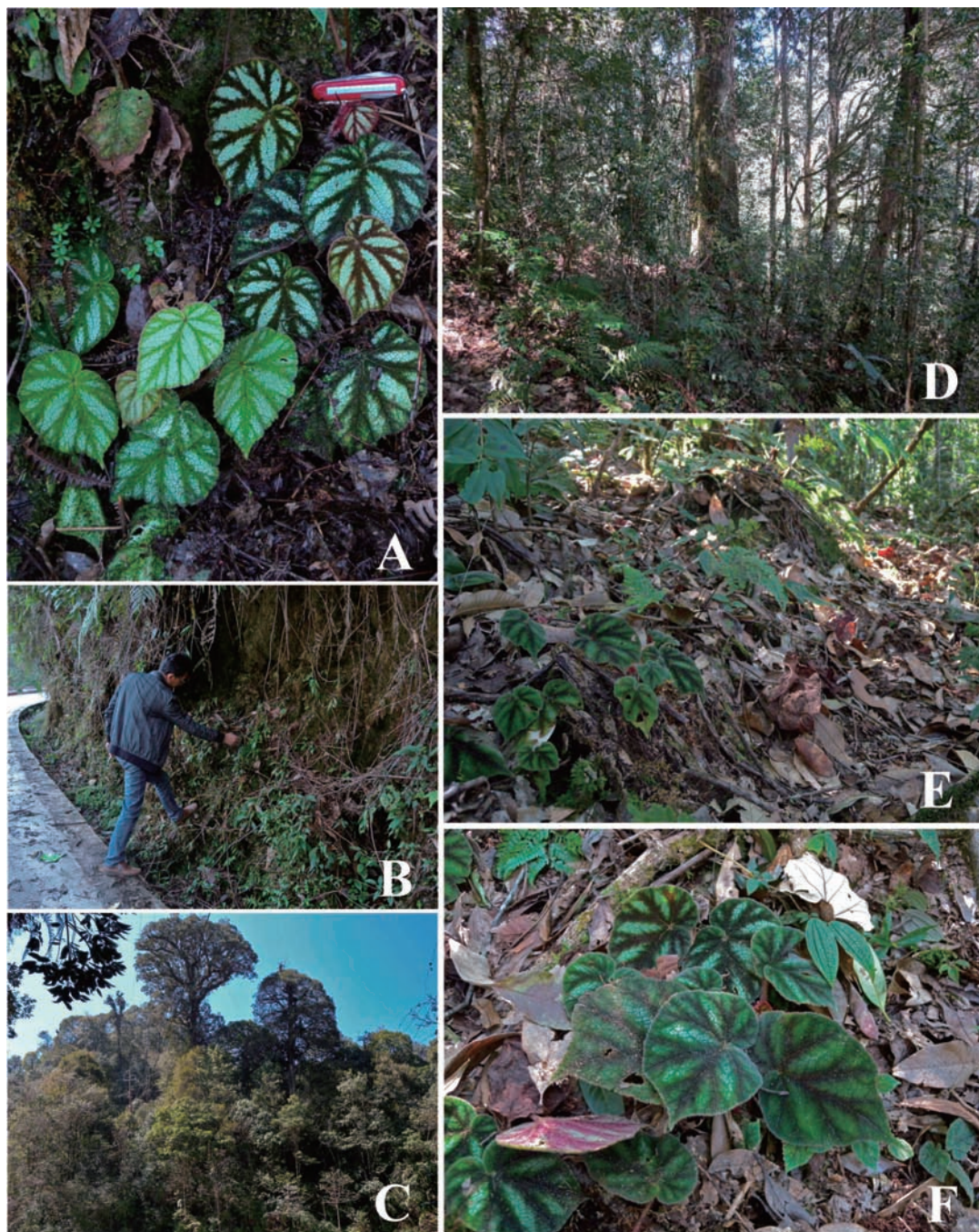


Fig. 1. *Begonia versicolor* on Dawei Mountain, Yunnan Province, China. A; Variations in leaf shape, color, and variegation in a *B. versicolor* population. B; Habitat consisting of north-facing roadside slopes. C; Appearance of the secondary forest as the habitat. D; Landscape of the forest in the secondary forest (C). E; Growth situation of *B. versicolor* in the secondary forest (C). F; Growth situation of *B. versicolor* after snow cover in 2013. All photos were taken on March 2, 2013, except for F (March 1, 2014).

Table 1. Habitat conditions and vegetation of the *Begonia versicolor* population on Dawei Mountain, Yunnan Province, China.

Latitude (WGS84)	N22°54'39.2"	Date	March 2, 2014
Longitude (WGS84)	E103°41'47.0"	Altitude	2100m
T1 Height	~35m	Exposure	N10E
T1 Coverage	30%	Inclination	12°
T2 Height	~20m	Square	20m×20m
T2 Coverage	40%	Soil pH	4.5
S Height	~7m		
S Coverage	30%		
H Height	~1.0m		
H Coverage	30%		
T1		S	
2•1	<i>Lithocarpus hancei</i>	2•2	<i>Ardisia conspersa</i>
2•1	<i>Castanopsis clarkei</i>	2•1	<i>Rubus</i> sp.
1•1	<i>Daphniphyllum oldhamii</i>	1•1	<i>Aucuba himalaica</i>
1•1	<i>Rhododendron irrotatum</i>	1•1	<i>Dendrocalamus</i> sp.
1•1	<i>Bischofia polycarpa</i>		
T2		H	
2•2	<i>Castanopsis clarkei</i>	2•2	<i>Osbekia</i> sp.
2•1	<i>Camellia cuspidata</i>	2•2	<i>Rubus</i> sp.
1•1	<i>Rhodoleia championii</i>	2•2	<i>Begonia versicolor</i>
1•1	<i>Eurya nitida</i>	1•1	<i>Ardisia conspersa</i>
1•1	<i>Eurya gnaphalocarpa</i>	1•1	<i>Plagiogyria</i> sp.
1•1	<i>Illicium simonsii</i>		
1•1	<i>Euonymus alatus</i>		
+	<i>Smilax</i> sp.		

により赤色と緑色に分け、さらに真上から見たときの植物体の広がり(個体サイズ)を直径 5 cm 未満、5 ~ 20 cm、20 cm 以上の 3 段階に区別し、その空間配置を記録した。分布様式の解析には Iwao (1972) の m^*/m 指数 (m^*/m index) を、個体サイズ間および葉色の異なる個体間の相対的な空間分布は、Iwao (1977) の ω 指数 (ω index) を用いた。

結果と考察

Begonia versicolor 自生地の二次林植生

自生地の大園山において、*B. versicolor* は発達した二次林の森林内の林床や林道脇の湿ったノリ面のいずれも北向きの斜面に生育していた (Fig. 1A, B, C & E)。植生調査の

結果は Table 1 に示した。高木層は樹高 30 m を越える *Lithocarpus hancei* (Benth.) Rehder (硬斗柯 = ナンバンガシ) と *Castanopsis clarkei* King ex J. D. Hooker (稜刺锥) が突出して優占し、亜高木層は *C. clarkei* と *Camellia cuspidata* (Kochs) H. J. Veitch (连蕊茶 = トガリバツバキ) が優占し、他に *Rhodoleia championii* Hooker (红花荷 = シャクナゲモドキ)、*Eurya nitida* Korthals (細齒葉桉 = タイワンヒサカキ)、*Eurya gnaphalocarpa* Hayata (灰毛桉 = ケミノヒサカキ)、*Illicium simonsii* Maxim. (野八角)、*Euonymus alatus* (Thunb.) Siebold (卫矛 = ニシキギ) が点在し、樹林内を覆っていた (Fig. 1C & D)。低木層は *Ardisia conspersa* E. Walker (散花紫金牛) と

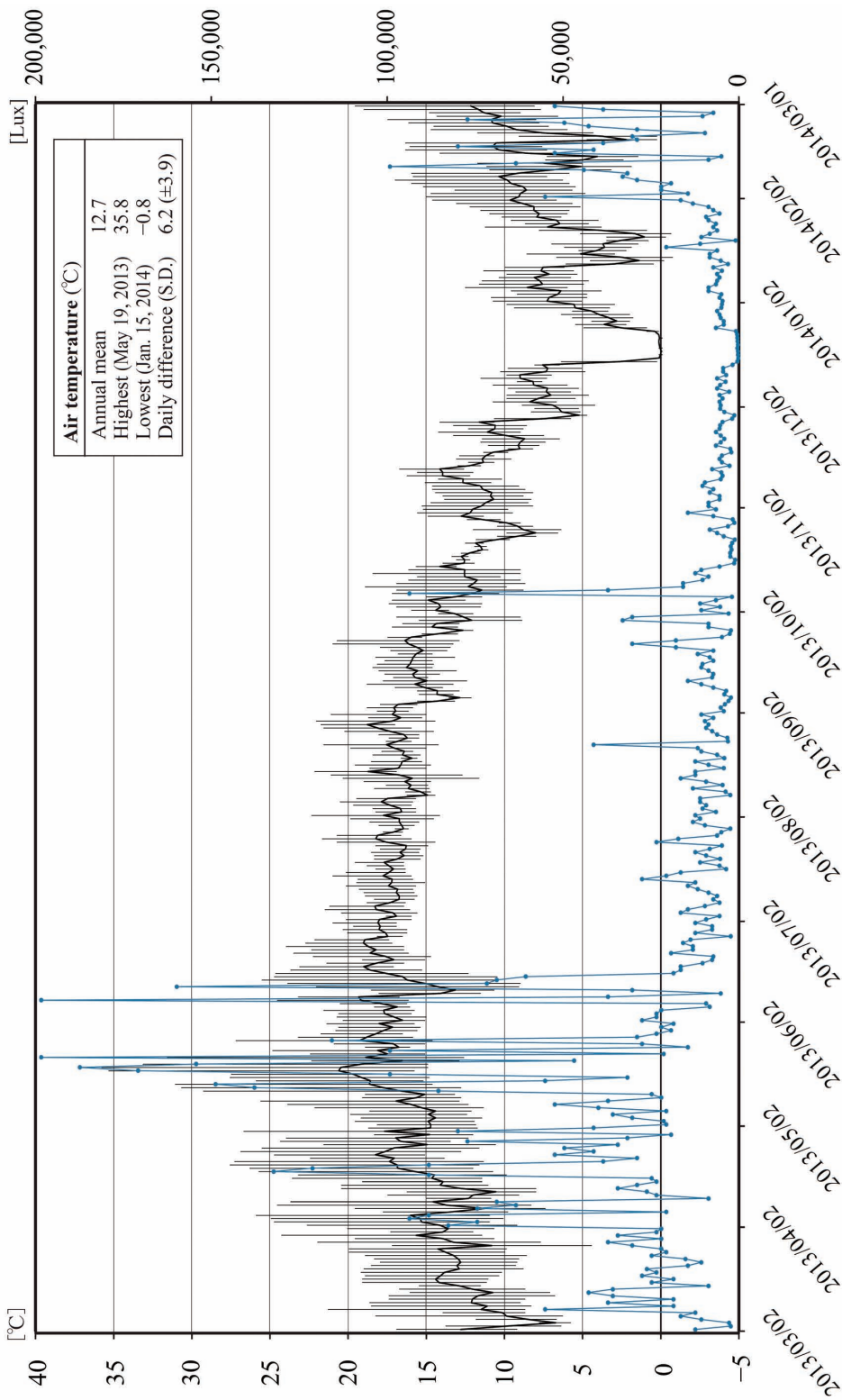


Fig. 2. Daily changes in temperature and illuminance between March 2, 2013 and March 1, 2014 in the habitat of *Begonia versicolor* on Dawei Mountain, Yunnan, China. Vertical lines, a black thick line, and the blue dots with connecting lines indicate the highest and the lowest temperatures, the mean temperature, and the highest illuminance, respectively. Temperature and illuminance measurements were conducted every 30 minutes in the habitat.

Rubus sp. (キイチゴ属の一種)の2種がやや疎らに生育し、草本層には *Osbekia* sp. (ヒメノボタン属の一種)と *Rubus* sp.、*B. versicolor* が多数確認された。低木層、草本層の植被率はともに30%と低く、*B. versicolor* は強くは被陰されていなかった。調査した二次林から近隣の、低木層および草本層が発達した高い植被率の林内を踏査したところ、ほとんど *B. versicolor* の生育を確認できなかったことから、*B. versicolor* は林床下の過度な被陰では生育が制限されている可能性がある。調査したコドラート内では *B. versicolor* の結実した果実を確認したほか、葉が地面に接して発根している個体も確認されたため、自生地では種子繁殖と栄養繁殖の両方で繁殖していると考えられる。

表層土壌はリター層が約10 cmで腐植質が多く含まれ、pHは4.5の酸性土壌であることが分かった。

自生地の気温と耐寒性

今回調査した大園山の *B. versicolor* 自生地は北回帰線より少し南で気候は亜熱帯であるが、標高約2100 mに位置している。1年間測定した平均気温は12.7°Cで、最高気温は2013年5月19日に35.8°C、最低気温は2014年1月15日に-0.8°Cを記録した(Fig. 2)。1日の最低気温と最高気温の日較差の年間平均は $6.2 \pm 3.9^\circ\text{C}$ (標準偏差、以下同じ)となった。志内ほか(2016)が、雲南省南部で *B. gulinqingensis* S.H. Huang & Y.M. Shui(古林箐秋海棠)(北緯22°51'00.0"、東経103°57'56.5"、標高1528 m)と *B. rhynchocarpa* Y.M. Shui & W.H. Chen(喙果秋海棠)(北緯22°40'27.9"、東経103°56'24.0"、標高164 m)の各自生地で2013年3月3日から2014年3月2日の1年間測定した平均気温はそれぞれ15.8°C、21.8°Cで、日格差は $3.9 \pm 1.7^\circ\text{C}$ 、 $1.5 \pm 0.7^\circ\text{C}$ であり、これらと比較して *B. versicolor* の自生地は、1年間の

平均気温は高く、日格差は大きかった。

Fig. 2に示す1年間の最低気温と最高気温の日格差と最大照度は同調していて、2013年6月中旬から2014年2月までは両者ともに小さく、この期間以外はともに大きくなっている。そのほか、6月12日の最大照度159823.3ルクスからわずか4日後の6月16日には最大照度18600.1ルクスと激減し、この日以降低い照度の日が2月まで続いている。これらのことから、今回の *B. versicolor* 自生地での測定値は、季節的に日射角度が変化してデータロガーに直接日差しが差し込み、その影響で気温の日格差が大きくなったと推測され、特に最大照度の高い2月から6月までに測定した気温は、実際の空中の気温より高いと考えられる。しかし、今回データロガーを設置した場所のすぐ近くには *B. versicolor* が生育していたことから、測定値は生育環境そのものを示していると考えられ、本種が最高温度35.8°C、最高照度198401.3ルクスでも生存可能なことや、健全な成長には2月から6月までに時折強い日差しが必要であることが示唆される。

2013年から2014年の冬は50年に一度ともいわれる強い寒気が訪れ、大園山の公園で働く人への聞き取りでは、自生地では珍しく降雪があり、場所によっては最大1 mほどの積雪があったとのことであった。調査に用いたデータロガーは地表付近の倒木上に設置したため、少しの降雪でも雪の中に埋もれる状態にあったと推察される。標高2450 mの富山県中新川郡立山町室堂での1980年10月～1987年3月の間の記録では、外気温が-15°Cまで下がることがあっても積雪下の地表温度は0°Cで一定に保たれている(長井1994)。今回の計測値が0°Cで一定していたことから、大園山で積雪があったのは12月15～25日の間と推測されたが、この間の外気温は今回最低温度として記録された-0.8°Cを下回っていた可能性がある。その

後も、2014 年 1 月 14、15、21、22 日の最低気温は 0°C を下回り、2 月 19、20 日には最低気温 0.2°C となっていたことから、2013 年から 2014 年の冬は何度も寒波や積雪に見舞われたと推測された。*Begonia versicolor* は 2013 年 12 月に 10 日間積雪下にあったものの、この間は雪によって寒さから保護され、植物体周囲は 0°C を下回らなかったと考えられる。2014 年 3 月 2 日の調査では生育状況をみるかぎり凍害などの影響は全く確認できなかったことから (Fig. 1F)、*B. versicolor* は少なくとも 0°C で連続 10 日間、最低 -0.8°C の寒さに耐える耐寒性を持つといえよう。また、周辺の植物についても、降雪による若干の枝折れや倒木等は確認できたが、葉が赤変して枯死するような凍害の症状は見られなかった。周辺植生の構成種の枝葉

は空中にあって積雪による保護を受けていないことから、これらは *B. versicolor* よりもさらに大きい耐寒性があると考えられる。

葉色と白斑の変異

Begonia versicolor の葉色は濃赤色、淡赤色、濃緑色、淡緑色と個体群の中でも様々な変異があり、異なる葉色の個体が近接して生育することもあった (Fig. 1A)。また、葉に入る白斑の濃さや大きさも個体によって異なるとともに、同一個体内でも葉ごとに違うこともあった。

大圍山の自生地で見られた代表的な葉色を持つ 2 個体について白斑のある部分とない部分 (緑色部分) の葉緑素量を計測した。その結果、白斑部分の SPAD 値の平均値はそれぞれ 21.8 ± 2.4 、 27.9 ± 2.4 で、緑色部分の平均値

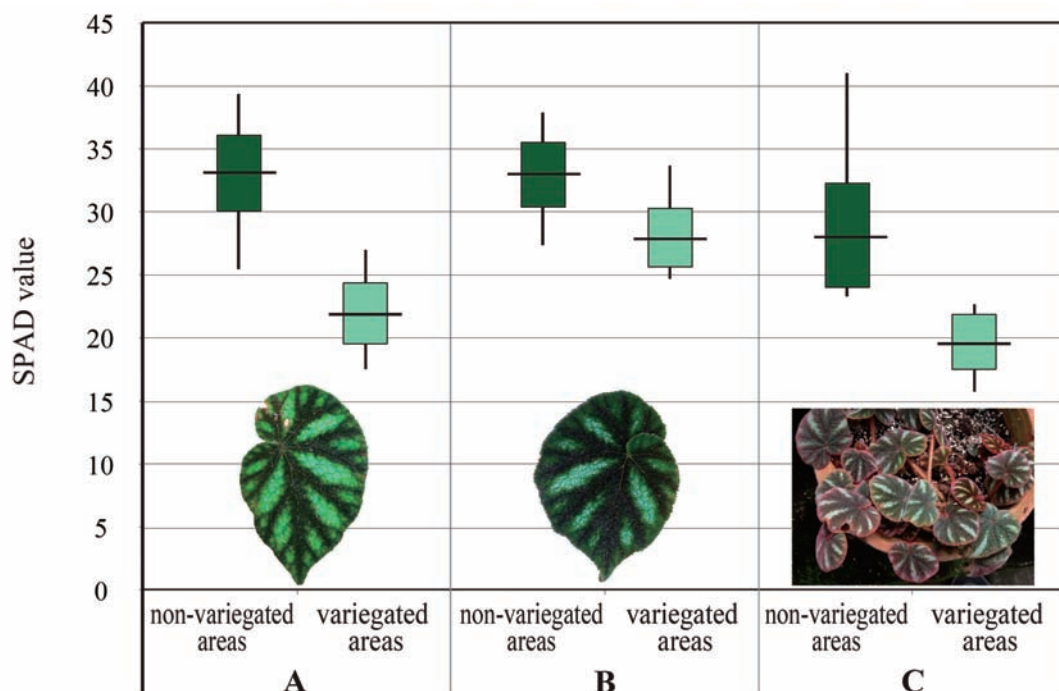


Fig. 3. Measurements of the chlorophyll content in the leaves of *Begonia versicolor* using SPAD-502 (Konica Minolta, Inc.). A & B: Dawei Mountain, Yunnan, China. C: Kunming Botanical Garden (Cultivated). Chlorophyll content in leaves differed significantly between non-variegated and variegated areas (t -test, $p < 0.01$).

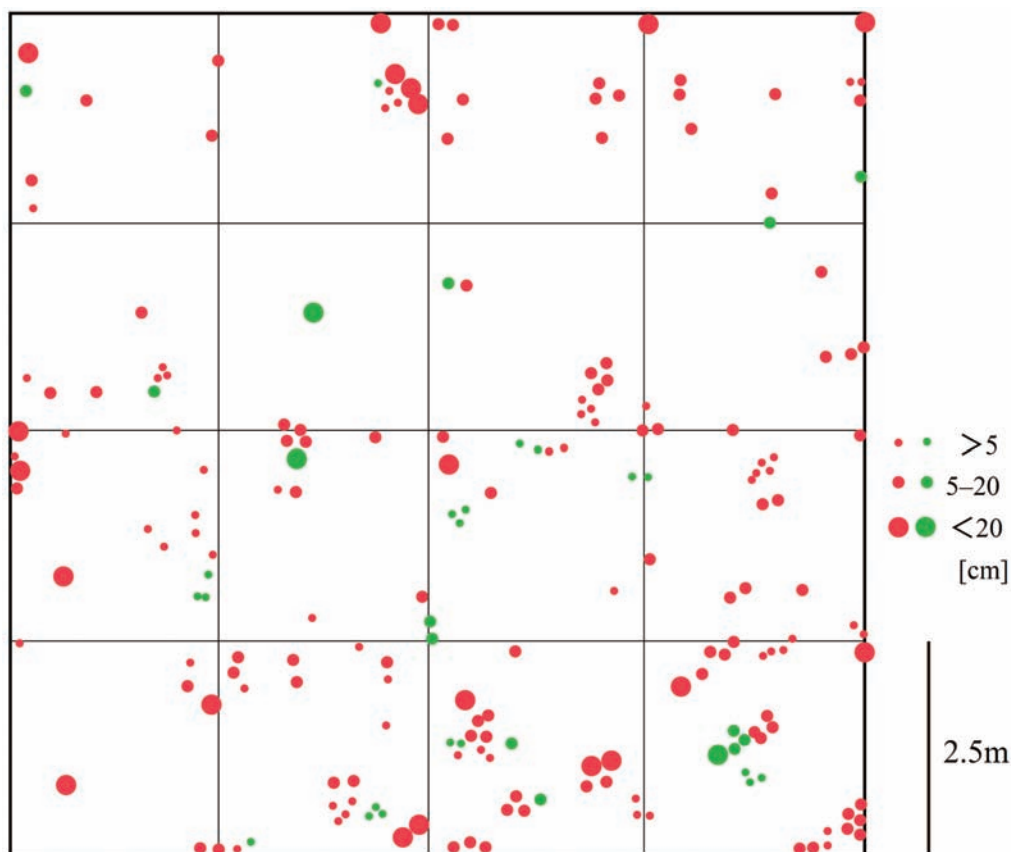


Fig. 4. Spatial distribution map of the individuals of *Begonia versicolor* on Dawei Mountain, Yunnan, China. Sizes of the solid circles represent individual sizes, less than 5 cm, 5–20 cm, and 20 cm or more, respectively. Red and green circles represent individuals with red leaves and green leaves, respectively.

は 33.0 ± 3.1 、 32.9 ± 2.6 となり、2 個体ともに白斑部分と緑色部分の平均値の間には有意差が確認された (t 検定、 $p < 0.01$) (Fig. 3)。また、昆明植物園で栽培する個体についても同様に計測したところ、白斑部分の平均値は 25.9 ± 2.9 、緑色部分は 36.9 ± 5.5 となり、互いに有意差が認められた (t 検定、 $p < 0.01$)。これは計測したいずれの葉も緑色部分より白斑部分の方が葉緑素含有量が少ないことを意味している。一方、Sheue *et al.* (2012) は、パルス変調蛍光システムを利用したクロロフィル蛍光測定器 FMS1 (Hansatech Instruments Ltd.) を用い、白斑を有するベゴニア属 3 種

B. diadema Linden ex Rodigas、*B. formosana* (Hayata) Masamune (マルヤマシュウカイドウ)、*B. pustulata* Liebm. の葉の白斑部分と緑色部分を計測したところ、互いの計測値には有意差は認められなかったとしている。今回、*B. versicolor* の白斑部分と緑色部分との葉緑素含有量に有意差がみられたのは、機器による計測方法の違いによるものかもしれないため、今後詳細な調査が必要である。

個体群の分布様式

植生調査の調査地で $10 \text{ m} \times 10 \text{ m}$ のコドラート内における *B. versicolor* の個体の空

間分布を調べたところ Fig. 4 のようになり、個体数は葉が赤色の個体は 167 個体、緑色の個体は 35 個体、合計 202 個体が確認された。またサイズ別に調べたところ、葉が赤色を帯び、個体サイズが 5 cm 未満、5 ~ 20 cm、20 cm 以上の個体数はそれぞれ 59、88、20 となり、緑色を帯びた個体はそれぞれ 20、12、3 であった。コドラート内に分布する *B. versicolor* 全個体を対象にコドラートを 100/16 m²、100/64 m²、100/256 m²、100/1024 m²、100/4096 m² に区分して全個体および各個体サイズ別に Iwao (1972) の m^*/m 指数を求めて分布様式を判断したところ、全個体の分布様式では複数のゆるやかなコロニー (コロニーの空間サイズは 100/1024 m²) が認められ、コロニー単位としてみた場合にはラ

ンダム分布を示し、コロニー内の分布様式は一様分布であると考えられた (Fig. 5)。個体サイズ 5 cm 未満と 5 ~ 20 cm の分布様式も全個体の分布様式と同様の結果となった一方で、個体サイズ 5 cm 未満が最も多くのコロニー (コロニーの空間サイズは 100/1024 m²) を形成していることが分かった。個体サイズ 20 cm 以上ではコロニーはランダム分布でコロニー内は一様分布と考えられ、コロニー空間サイズは 100/256 m² であると推察された。田ほか (2001) や李ほか (2005) により、栽培環境下での健全な成長には高い湿度条件が必要なことが知られている。今回の調査中には土壌水分が高いと推測される小さな斜面やその下部、地面の窪みに *B. versicolor* が多数観察されたため、こうした生育環境がコロニー

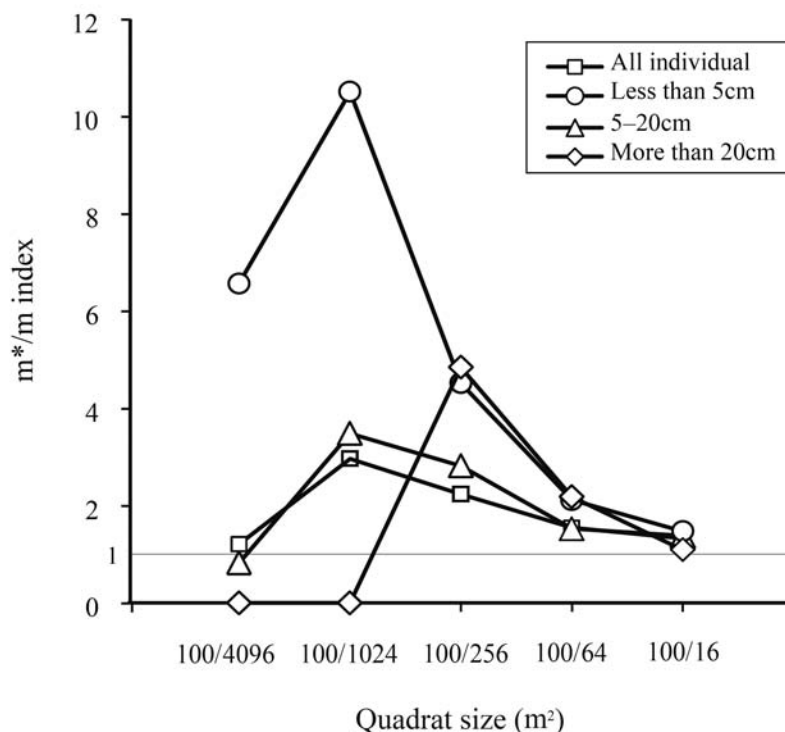


Fig. 5. Changes in the m^*/m index with quadrat size for each plant size of *Begonia versicolor* population on Dawei Mountain, Yunnan, China. The line at $m^*/m = 1$ indicates the expected values for a random distribution.

の形成に影響を与えた可能性がある。本調査ではコドラート内に生育する他の樹木や草本による被陰の影響、土壌条件や地面の傾斜などの微細環境は加味できていないため、分布様式が成立した要因については詳細な調査が必要である。

Iwao (1977) の ω 指数により、葉色の赤色と緑色の個体間、および各個体サイズ間における相対的な分布関係を解析した (Fig. 6)。その結果、葉色が赤色と緑色の個体間の相対的な分布関係については、100/1024 m² の小さい区画サイズだけ互いに弱い排他的分布関係を示した。100/256 m² より大きい区画サイズでは正の相互関係を示し、葉が赤色と緑色の個体の個体群内の分布は排他的な相互関係ではないことから、赤色と緑色の個体は、葉色の違いにより生育場所が異なるなどの住

み分けはないと考えられる。

個体サイズ毎の相対的な分布関係については、5 cm 未満と 5 ~ 20 cm の個体サイズ間では、区画サイズが最も小さい 100/1024 m² と 100/256 m² で互いに独立分布となり、区画サイズが 100/64 m² より大きくなるにつれて正の相互関係となった。また、5 ~ 20 cm と 20 cm 以上の個体サイズ間では、区画サイズ 100/1024 m² で完全な排他性があり、100/256 m² より大きな区画サイズでは独立分布の傾向を示した。5 cm 未満と 20 cm 以上の個体サイズ間では、区画サイズの小さい 100/1024 m² で独立分布であったが、100/256 m² 以降の区画サイズでは他の個体サイズ間の相対的な分布関係より高い正の相関関係が見られた。これらの結果から、種子繁殖可能な 20 cm 以上の大型の個体と、一部が種子

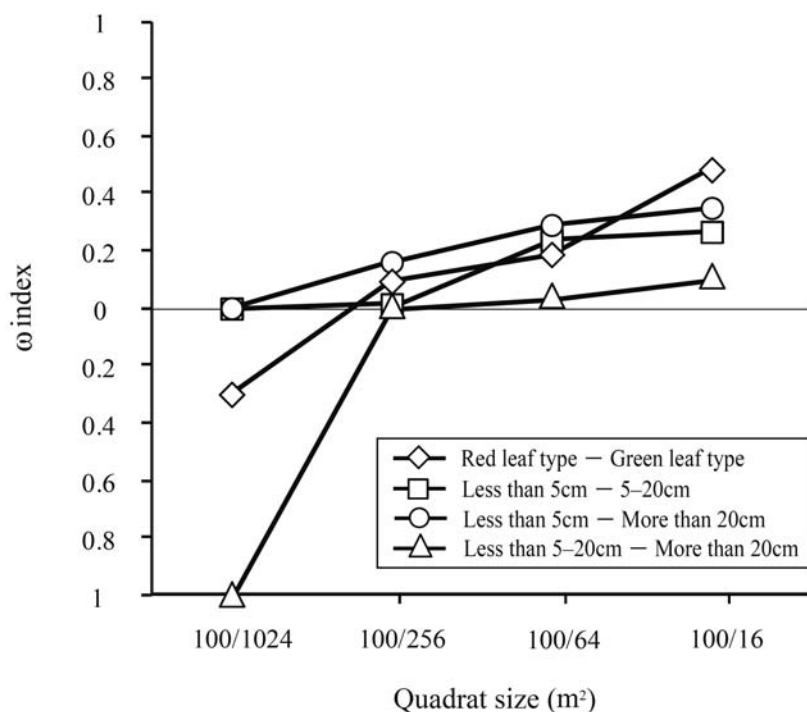


Fig. 6. Changes in the ω index of leaf size and leaf color in populations of *Begonia versicolor* on Dawei Mountain, Yunnan, China. The line at $\omega = 0$ indicates the expected value for mutually independent distribution.

繁殖可能と推測される 5 ~ 20 cm の個体とは互いに排他的もしくは独立分布しつつ、5 cm 未満の小型の個体とはゆるやかに重なり合って分布することが分かった。一方で、5 cm 未満の実生と考えられる個体の分布様式は、最も多数のコロニーを作り、そのコロニーはランダムに分布していることから、調査したコードラート内では種子繁殖可能な個体の近くだけでなく、少し離れた場所にも種子が散布され実生が繁殖していると推測される。

本調査は日本学術振興会によるアジア研究教育拠点事業(岡山大学)「東アジアにおける有用植物遺伝資源研究拠点の構築」の助成を受けて実施した。ここに記してお礼申し上げる。

引用文献

- Chun, L., Chen, J.L., Li, Y.Y. & Tian, D.K. 2018. Genetic diversity of *Begonia versicolor* (Begoniaceae), a narrow endemic species in southeast Yunnan of China. *Taiwania* **63**: 49–53.
- 崔 卫华・管 开云. 2013. 中国秋海棠属植物叶片斑纹多样性研究. 植物分类与资源学报 **35**: 119–127. [Cui, W.H. & Guan, K.Y. 2013. Diversity of leaf variegation in Chinese Begonias. *Plant Diversity and Resources* **35**: 119–127.]
- 管 开云・李 景秀・李 宏哲. 2005. 云南秋海棠属植物资源调查研究. 园艺学报 **32**: 74–80. [Guan, K.Y., Li, J.X. & Li, H.Z. 2005. Summarization of *Begonia* resources from Yunnan Province. *Acta Horticulturae Sinica* **32**: 74–80.]
- Gu, C.Z., Peng, C.I. & Turland, N. J. 2007. Begoniaceae. In: Wu, Z.Y., Raven, P. H. & Hong, D.Y. (eds.), *Flora of China*. Vol. 13. pp. 153–207. Science Press. Beijing & Miss. Bot. Gard., St. Louis.
- Iwao, S. 1972. Application of the m^*/m method to the analysis of spatial pattern by changing the quadrat size. *Res. Popul. Ecol.* **14**: 97–128.
- Iwao, S. 1977. Analysis of spatial association between two species based on the interspecies mean crowding. *Res. Popul. Ecol.* **18**: 243–260.
- 李 景秀・管 开云・李 宏哲. 2005. 湿度对变色秋海棠植株生长的调节作用. 广西植物 **25**: 161–163. [Li, J.X., Guan, K.Y. & Li, H.Z. 2005. Regulatory effects of humidity on plant growth phase in *Begonia versicolor*. *Guihaia* **25**: 161–163.]
- 長井真隆. 1994. とやま植物誌. 277pp. シー・エー・ピー, 富山.
- Sheue, C.R., Pao, S.H., Chien, L.F., Chesson, P. & Peng, C.I. 2012. Natural foliar variegation without costs? The case of *Begonia*. *Ann. Bot.* **109**: 1065–1074.
- 志内利明・魯 元学・李 景秀・管 開雲・高橋一臣・中田政司. 2016. 中国雲南省南部に自生する希少なベゴニア属 3 種の生育環境. 富山県中央植物園研究報告 **21**: 19–26.
- 鈴木時夫(訳). 1971. ブラウン - ブランケ植物社会学 I. 359pp. 朝倉書店, 東京.
- 田 代科・管 开云・郭 瑞贤・李 景秀. 2001. 变色秋海棠の繁殖栽培. 广西植物 **21**: 375–380. [Tian, D.K., Guan, K.Y., Guo, R.X. & Li, J.X. 2001. Propagation and cultivation of *Begonia versicolor*. *Guihaia* **21**: 375–380.]
- Tian, D.K., Xiao, Y., Tong, Y., Fu, N.F., Liu, Q.Q. & Li, C. 2018. Diversity and conservation of Chinese wild begonias. *Plant Diversity* **40**: 75–90.

Shoot propagation and regenerable callus production from meristems derived from axillary buds in *Prunus campanulata*, a subtropical tree species

Toshinari Godo^{1)*}, Yoichiro Hoshino²⁾ & Takaaki Oohara¹⁾

¹⁾ Botanic Gardens of Toyama, 42 Kamikutsuwada, Fuchu, Toyama 939-2713, Japan

²⁾ Field Science Center for Northern Biosphere, Hokkaido University, Kita 11, Nishi 10, Kita-Ku, Sapporo 060-0811, Japan

*godo@bgty.m.org (corresponding author)

Abstract: *Prunus campanulata* is a precious genetic resource of flowering cherry. This species is native to the subtropical zone of the Ryukyu Islands (Japan) and an *in vitro* propagation protocol has not yet been established for this species. To establish a tissue culture system for micropropagation, meristems of *P. campanulata* growing on the Ryukyu Islands were cultured on gellan gum-solidified Lloyd and McCown (1981) woody plant medium (WPM) supplemented with 1 mg/l of benzylaminopurine (BAP), thidiazuron (TDZ), or zeatin (Zea). Cultures were maintained at 25°C under a 16/8-h (light/dark) photoperiod with fluorescent lighting (40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$). Almost all of the meristems which were cultured on media containing BAP or Zea developed shoots. On the other hand, media that contained TDZ exhibited a high rate of callus formation (70 %), regardless of initial culture time. The callus had maintained a diploid state regardless of the concentration of TDZ, and spontaneously formed shoots during a 2-year culture period.

Key Words: flowering cherry, micropropagation

The flowering cherry is the most popular ornamental tree in the world. To date, almost all cultivars planted worldwide were bred from Japanese wild cherry species, such as *Prunus jamasakura*, *P. speciosa*, and *P. pendula*. Approximately 10 species were native to Japan, the majority of which inhabited a temperate zone. However, one species, *P. campanulata*, was native to the Ryukyu Islands located at subtropical zone. As the subtropical flowering cherry exhibited highly sought after ornamental traits such as an early flowering period and deep red flowers, they were planted along many roadsides and parks on the Ryukyu Islands. Nursery plants of the flowering cherry were propagated by seed, accounting for the variation in characteristics such as flower color, shape, and flowering period. Therefore, it becomes necessary to establish a method for mass clonal propagation of elite flowering cherry trees with high horticultural value.

In the genus *Prunus*, because propagation from cuttings is generally difficult, cultivars are usually propagated by conventional methods such as grafting, proliferation by these means is also limited by seasonal restrictions. Researchers have already reported *in vitro*

shoot proliferation from meristems in many flowering cherries including *P. sargentii* Rehder (Satoh 1994), *P. × mochidzukiana* Nakai (Kawai 1993), *P. leveilleana* Koehne ‘Antiqua’ (Sakatani & Amano 1987), *P. lannesiana* (Carrière) E.H. Wilson ‘Juzukakezakura’ (Kasahara *et al.* 2007), *P. jamasakura* Siebold ex Koidz ‘Haquiensis’ (Sengi 2001) and *P. jamasakura* ‘Zenshoji-kikuzakura’ (Sengi 2001), and *P. spachiana* (Lavalee ex E. Otto) Kitam. ‘Pendula’ (Tanaka 1995). We have also reported micropropagation of several chrysanthemum-flowered cherry cultivars, such as *P.* ‘Nyuzen-otome-kikuzakura,’ *P. lannesiana* ‘Longipedunculata,’ *P. lannesiana* ‘Sphaerantha,’ *P. × miyoshii* Ohwi ‘Amnbiqua,’ *P. lannesiana* ‘Mirabilis’ and *P. jamasakura* ‘Jyokyoji-temari-zakura’ (Godo *et al.* 2013, Okada *et al.* 2015). Micropropagation is a good system to maintain the genetic stability of proliferated individuals with an added advantage of year-long production not limited by seasonal restrictions. However, to date, no micropropagation protocol has been reported for the subtropical flowering cherry, *P. campanulata*.

On the other hand, successful callus initiation from several kinds of tissues such as stems, leaves, and roots, was reported in several *Prunus* species and cultivars such as sour cherry, colt cherry, peach, and others (Coffin *et al.* 1976, Druart 1980, Jones *et al.* 1984, Matsuta *et al.* 1983, Declerck & Korban 1996, Blando *et al.* 2005). Establishment of regeneration systems from callus is not necessarily important for mass propagation but is for production of transgenic plants.

This paper describes shoot propagation and regenerable callus production from meristems of *P. campanulata* that were cultivated on Ryukyu Islands, Japan.

Materials and methods

Plant Materials

Prunus campanulata cultivated on the main island of Okinawa located at the southern part of Japan and belonging to subtropical zone, was used in this study. Several branches of the tree which were used as experimental material were delivered to the Botanic Gardens of Toyama, located at the central part of Japan.

Meristem culture

The branches of *P. campanulata* were cut into small pieces of about 2 cm in length containing one axillary bud. Explants were washed with tap water and then washed in a neutral detergent solution on a magnetic rotary shaker for 30 min. Explants were subsequently surface-sterilized with a NaOCl solution (1% available chlorine) containing 1% (w/v) surfactant (polyoxyethylene sorbitan monolaurate) for 10 min and then rinsed with sterilized distilled water.

Meristems excised under a microscope from the sterilized axillary bud were cultured on gellan gum-solidified Lloyd and McCown (1981) woody plant medium (WPM) supplemented with 1 mg/l of benzylaminopurine (BAP), thidiazuron (TDZ) or zeatin (Zea). All

media were supplemented with 5 mg/l gibberellin (GA₃) and 20 g/l sucrose. Media were solidified with 0.2% gellan gum (Phytigel; Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) and the pH was adjusted to 5.8 before autoclaving at 121°C for 15 min. For callus production, meristems were cultured on gellan gum-solidified WPM supplemented with 0.1, 1 or 5 mg/l of TDZ and were transferred to fresh media every 30 to 45 days. Each meristem was maintained separately in glass tubes (20 × 140 mm) each containing 10 ml of the medium and were incubated at 25 ± 2°C under a 16/8-h (light/dark) photoperiod with fluorescent lighting (40 µmol/m²/s).

Flow cytometric analysis

For analysis of ploidy level, the DNA content of the callus and shoots regenerated from callus was measured by a flow cytometer (Partec PA; Partec). The callus produced on medium containing different concentrations of TDZ and shoots regenerated from callus supplemented with 1 mg/l TDZ were cut with a razor blade in a nuclear extraction buffer (Quantum Stain NA 2A, Cytotechs, Ibaraki, Japan) on a plastic petri dish (3.5 cm in diameter). After filtration through a 30 µm nylon mesh (CellTrics®, Cytotechs, Ibaraki, Japan),

Table 1. The effect of plant growth regulators and season of initial culture on *in vitro* propagation of meristems of *Prunus campanulata* after 2 months.

Plant growth regulator	Season of initial culture	Rate of survival (%)	Rate of callus forming (%)	Rate of shoot forming (%)
BAP (1 mg/l)	Early Dec.	18.2	66.7 (37.5 ^a)	33.3
	Late Jan.	37.8	42.9 (0)	57.1
TDZ (1 mg/l)	Early Dec.	20.9	100 (35.7)	0
	Late Jan.	27.5	72.7 (0)	27.3
Zea (1 mg/l)	Early Dec.	9.0	16.7 (0)	83.3
	Late Jan.	18.9	14.3 (100)	85.7

^a Rate of callus with shoot elongated from meristem.

Table 2. Effect of various concentration of thidiazuron on callus and shoot formation from meristem of *Prunus campanulata*.

Concentration of TDZ (mg/l)	Rate of survival (%)	Rate of callus formation (%)	Rate of shoot formation (%)	Rate of callus with shoots elongated from meristem (%)
0.1	36.4	83.3	16.7	66.7
1	44.9	95.7	4.3	31.8
5	32.5	100	0	6.3

Rate of shoot formation was calculated as (number of shoot regenerated callus / number of total callus × 100)

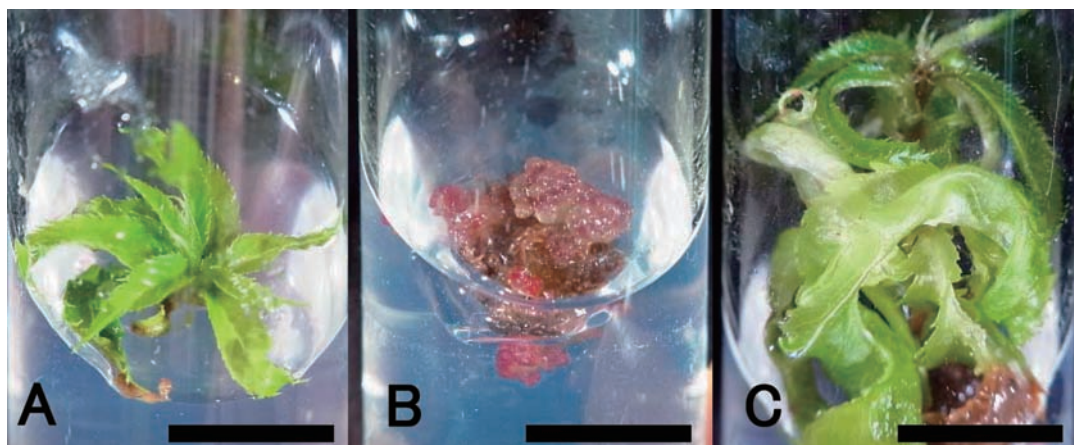


Fig. 1. Effect of different plant growth regulators on meristem culture of *Prunus campanulata* after 2 months of initial culture. The explants were placed on 0.2% gellan gum-solidified WPM supplemented with 5 mg/l GA_3 in combination with 1 mg/l BAP, TDZ or Zea. (A) Shoot development from meristems cultured on media containing 1 mg/l BAP, (B) Callus formation from meristems cultured on media containing 1 mg/l TDZ, (C) Shoot development from meristems cultured on media containing 1 mg/l Zea. All bars = 1 cm.

the extracted nuclei were stained with 0.8 ml 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) solution containing 10 mM Tris, 50 mM sodium citrate, 2 mM $MgCl_2$, 1% (w/v) PVP K-30, 0.1% (v/v) Triton X-100, and 2 mg/l DAPI (pH 7.5) (Mishiba *et al.* 2000), and measured with the flow cytometer according to the procedure described in Miyashita *et al.* (2011). More than 3,000 nuclei were analyzed in each measurement. A hypocotyl of a seedling of *P. campanulata* was used as diploid control.

Results and discussion

Contamination by fungi or bacteria was the most serious problem and as a result, the survival rate after 2 months of initial culture was low (<50%) (Table 1, 2). Kawai (1993) suggested that a high rate of contamination in *P. × mochidzukiana* meristem culture was due to environmental conditions, specifically, high humidity caused by rain. In the current study, as the plant material was transported in sealed bags under high humidity over long distance, it is foreseeable that populations of these microorganisms increased during the transportation.

The majority of meristems which were cultured on media containing BAP or Zea developed shoots (Table 1, Fig. 1A, C). After transfer to fresh media containing the same plant growth regulators, shoots developed better on media containing BAP rather than Zea (Fig. 2). The use of Zea for meristem culture of cherry tree has not yet been reported. However, BAP has been shown to be effective in meristem development for several kinds of flowering cherry (Sakatani & Amano 1987, Kawai 1993, Satoh 1994, 1999, Kasahara *et al.* 2007,

Godo *et al.* 2013, Okada *et al.* 2015).

On the other hand, the formation of callus was observed on all media, however the rate at which they occurred differed amongst the plant growth regulators which were used in this study (Table 1). Media containing TDZ promoted a higher rate of callus formation (100 or 72.7%), followed by BAP and Zea, regardless of initial culture season (Table 1, Fig. 1). With regard to media containing TDZ, when explants were harvested in December, callus production (35.7%) was accompanied by shoots which were derived from meristem. However, no shoots were observed in callus induced on same medium in January (Table 1). It is unclear whether this observation is due to the seasonal variations. Callus formation in flowering cherry has been reported from various organs using individual plant growth regulators or combinations. For example, the application of a combination of kinetin and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) to meristem lead to callus production in 5 *Prunus* cultivars including *P. armeniaca* 'Morden', *P. avium* 'Bing', *P. cerasus* 'Montmorency', *P. domestica* 'Fellenberg' and *P. persica* 'Reliance', and 3 species including *P. mahaleb*, *P. nigra* and *P. padus* (Coffin *et al.* 1976). Callus was produced on leaves of *Prunus persica* with the use of 2,4-D, Dicamba, BAP or Zea (Declerck & Korban 1996) while a combination of BAP and 2,4-D promoted callus formation on leaves of *P. lannesiana*



Fig. 2. Plantlets of *Prunus campanulata* grown on 0.2% gellan gum-solidified WPM supplemented with 1 mg/l BAP 2 months after subculture. Bar = 1 cm.

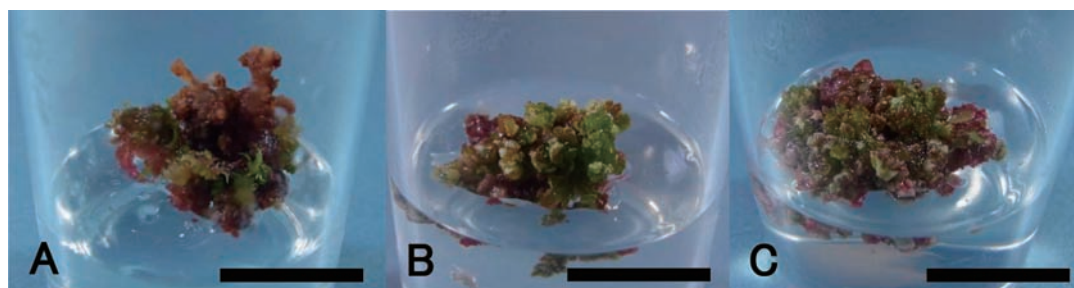


Fig. 3. Effect of different concentrations of TDZ (0.1, 1 or 5 mg/l) on callus formation from meristems of *Prunus campanulata* after 2 months of initial culture. As a basal medium, 0.2 % gellan gum-solidified WPM supplemented with 5 mg/l GA₃. (A) Callus induced on media containing 0.1 mg/l TDZ. (B) Callus induced on media containing 1 mg/l TDZ. (C) Callus induced on 5 mg/l TDZ. All bars = 1 cm.

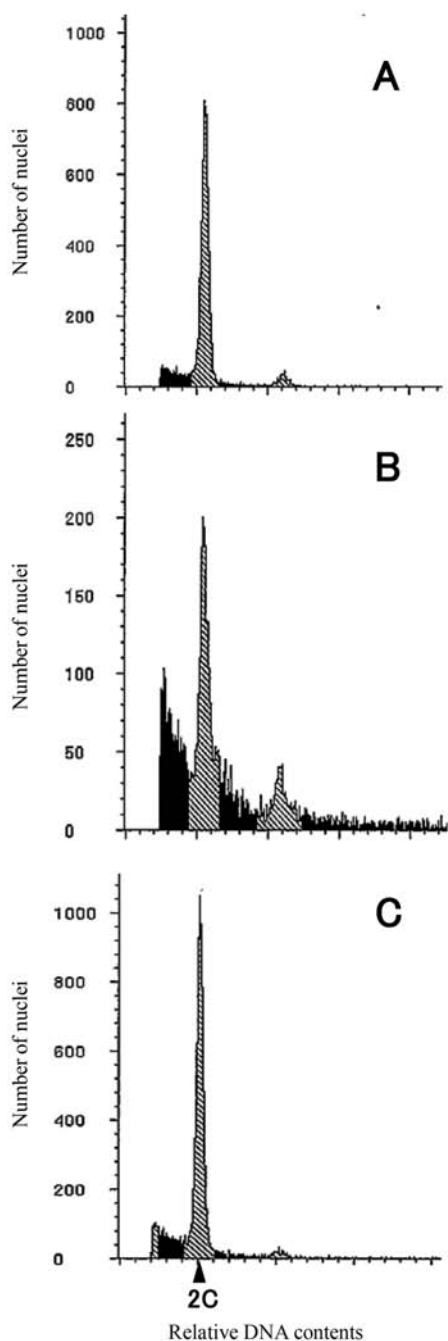


Fig. 4. Frequency distribution of relative nuclear DNA contents by flow cytometric analysis. (A), cotyledon of *Prunus campanulata* seedlings used as control. (B), callus maintained on media supplemented with 1 mg/l TDZ. (C), shoot regenerated from callus maintained on media containing 1 mg/l TDZ.

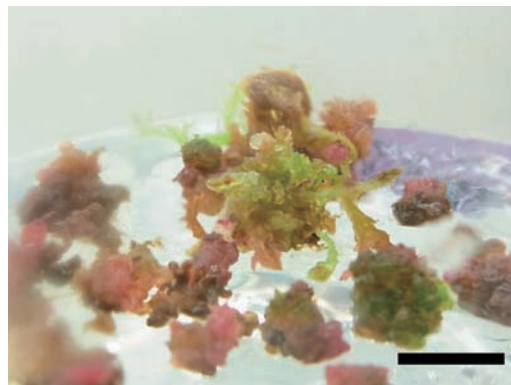


Fig. 5. Adventitious shoot regeneration from callus maintained on WPM supplemented with 1 mg/l TDZ. Bar = 1 cm.

(Matsuta *et al.* 1983). Callus development from roots of *P. dawickensis*, *P. canescens*, and *P. incisa* $\times$ *serrula* was promoted with the use of a combination of BAP and GA₃ (Druart 1980) while in the colt cherry, BAP was required to initiate callus development (Jones *et al.* 1984).

Callus was induced from all concentrations of TDZ examined in the present study (Table 2, Fig. 3). It has been reported that TDZ is also effective for callus induction from leaf segments of *P. persica* (Declerck & Korban 1996). It might be possible that TDZ is a useful plant growth regulator for callus induction from any organ from any *Prunus* species. At concentrations of 1 and 5 mg/l in culture media, TDZ improved callus development as compared to 0.1 mg/l TDZ. The callus obtained in this study had maintained a diploid level over a period of two years regardless of the concentration of TDZ (Fig. 4). Furthermore, callus spontaneously formed shoots during subculture over two years when maintained on media supplemented with 0.1 or 1 mg/l

TDZ (Table 2). The ploidy level of the shoot was determined as diploid by flow cytometric analysis (Fig. 4, 5). However, adventitious shoots were not observed on media containing 5 mg/l TDZ (Table 2) suggesting that lower concentrations of TDZ contributed to the ability of shoots to regenerate.

Recently, many transgenic plants exhibiting new useful traits such as a different flower color or resistance to diseases and insects, were produced by genetic transformation (Schuler *et al.* 1998, Punja 2001, Bates *et al.* 2005, Katsumoto *et al.* 2007). The regenerable callus obtained in this study may be useful material to transform flowering cherry.

This study was financially supported by the Okinawa Churashima Foundation. The authors wish to thank Mr. Hiroyuki Sato for assistance in collection of plant material and Ms. Ami Matsui for technical assistance of tissue culture.

神戸敏成¹⁾・星野洋一郎²⁾・大原隆明¹⁾: リュウキュウカンヒザクラの成長点からのシュートおよび再分化能を有するカルスの形成

リュウキュウカンヒザクラは日本の亜熱帯地域に自生するサクラである。組織培養による大量増殖技術を確立するために、琉球列島で栽培されているリュウキュウカンヒザクラの成長点培養を試みた。植物成長調節物質であるベンジルアミノプリン(BAP)またはチアジアズロン(TDZ)、ゼアチン(Zea)を1 mg/lの濃度になるように添加したWPM培地に成長点を置床し、培養温度25°C、蛍光灯によ

る16時間照明(40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)の条件下で培養を行った。BAPまたはZeaを添加した培地では成長点はシュートに成長した。一方、TDZを添加した培地では培養時期に関わらず70%以上の成長点からカルスが形成された。カルスは2年間二倍体を維持し、時々シュートが再分化した。

(¹⁾ 〒939-2713 富山県富山市婦中町上轡田42 富山県中央植物園・(²⁾ 〒060-0811 北海道札幌市北区北11西10 北海道大学北方生物圏フィールド科学センター)

Literature cited

- Betes, S. L., Zhao, J. Z., Roush, R. T & Shelton, A. M. 2005. Insect resistance management in GM crops: past, present and future. *Nat. Biotechnol.* **23**: 57–62.
- Blando, F., Scardino, A. P., De Bellis, L., Nicoletti, I. & Giovinazzo, G. 2005. Characterization of in vitro anthocyanin-producing sour cherry (*Prunus cerasus* L.) callus culture. *Food Res. Int.* **38**: 937–942.
- Coffin, R., Taper, C. D. & Chong, C. 1976. Sorbitol and sucrose as carbon source for callus culture of some species of the Rosaceae. *Can. J. Bot.* **54**: 547–551.
- Declerck, V. & Korban, S. S. 1996. Influence of growth regulators and carbon sources on callus induction, growth and morphogenesis from leaf tissue of peach (*Prunus persica* L. Batsch). *J. Hortic. Sci.* **71**: 49–55.

- Druart, P. 1980. Plantlet regeneration from root callus of different *Prunus* species. *Sci. Hortic.* **12**: 339–342.
- Godo, T., Okada, Y. & Oohara, T. 2013. Effects of plant growth regulators on meristem culture of seven chrysanthemum-flowered cherry cultivar. *Bull. Bot. Gard. Toyama* **18**: 7–14.
- Jones, O. P., Gayner, J. A. & Watkins, R. 1984. Plant regeneration from callus tissue cultures of the cherry rootstock Colt (*Prunus avium* × *P. pseudocerasus*) and the apple rootstock M.25 (*Malus pumila*). *J. Hortic. Sci.* **59**: 463–467.
- Kasahara, S., Han, D. S. & Niimi, Y. 2007. Plantlet production by shoot-tip culture of a protected cherry-blossom tree, *Prunus lannesiana* Wils. ‘Juzukake-zakura’. *Bull. Fac. Agr. Niigata Univ.* **60**: 33–38.
- Katsumoto, Y., Fukuchi-Mizutani, M., Fykui, Y., Brugliera, F., Holton, T. A., Karan, M., Nakamura, N., Yonekura-Sakakibara, K., Tagami, J., Pigeaire, A., Tao, G. Q., Nehra, N. S., Lu, C. Y., Dyson, B. K., Tsuda, S., Ashikari, T., Kusumi, T., Mason, J. G. & Tanaka, Y. 2007. Engineering of the rose flavonoid biosynthetic pathway successfully generated blue-hued flowers accumulating delphinidin. *Plant Cell Physiol.* **48**: 1589–1600.
- Kawai, M. 1993. Attempt to propagation successor tree of *Prunus* × *mochidzukiana* Nakai of Butsuryuji temple using tissue culture. *Naraken-Rinshi-Ringyo-Shiryo* **8**: 12–13. (in Japanese)
- Lloyd, G. B. & McCown, B. H. 1981. Woody plant medium (WPM)—a mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species. *HortScience* **19**: 507–509.
- Matsuta, N., Hirabayashi, T. & Akihama, T. 1983. Plantlet formation from leaf callus of *Prunus lannesiana* Wils. *Japanese Journal of Breeding* **33**: 484–486.
- Mishiba, K., Ando, T., Mii, M., Watanabe, H., Kokubun, H., Hashimoto, G. & Marchesi, E. (2000). Nuclear DNA content as an index character discriminating taxa in the genus *Petunia* sensu Jussieu (Solanaceae). *Ann. Bot.* **85**: 665–673.
- Miyashita, T., Araki, H. & Hoshino, Y. 2011. Ploidy distribution and DNA content variations of *Lonicera caerulea* (Caprifoliaceae) in Japan. *J. Plant Res.* **124**: 1–9.
- Okada, Y., Oohara, T., Matsuzawa, S., Kato, Y., Chikagawa, N., Moriuchi, T., Onnagawa, S., Horiuchi, R., Terashima, T., Morita, R., Nakata, M. & Godo, T. 2015. Micropropagation of a new chrysanthemum-flowered cherry cultivar of *Prunus jamasakura*. *Bull. Bot. Gard. Toyama* **21**: 15–22.
- Punja Z. K. 2010. Genetic engineering of plants to enhance resistance to fungal pathogens: a review of progress and future prospects. *Can. J. Plant Pathol.* **23**: 216–235.
- Sakatani, M. & Amano, T. 1987. Tissue culture technology to the propagation of Narano-yaezakura (*Prunus leveilleana* Koehne cv. Anntiqua). *Bull. Nara For. Expt. Sta.* **17**: 26–31. (in Japanese)
- Satoh, T. 1994. In vitro mass propagation from shoot-tip culture of *Prunus sargentii*. *Bull.*

- Hokkaido Forest. Res. Inst. **31**: 77–86. (in Japanese)
- Satoh, T. 1999. In vitro mass propagation from shoot-tip culture of *Prunus nipponica* var. *kurilensis* Wil. Bull. Hokkaido Forest. Res. Inst. **36**: 1–9. (in Japanese)
- Schuler, T. H., Poppy, G. M., Kerry, B. R. & Denholm, I. 1998. Insect-resistant transgenic plants. Trends Biotechnol. **16**: 168–175.
- Sengi Y. 2001. Effects of TG-19 on the tissue culture of Subgenus *Cerasus* –The multiplication of *Cerasus jamasakura* and *C. incisa* and TG-19 effect on the flower and formation of *C. incisa*–. Sakura Science **8**: 16–19. (in Japanese)
- Tanaka, M. 1995. Propagation of Sidarezakura (*Prunus pendula* ‘Pendula’) by axillary bud culture (I). Culture of modified MS solid medium, acclimation and nursing. Bull. Nara Pref. For. Expt. Sta. **25**: 12–17. (in Japanese)

富山県氷見市小境海岸で採集された漂流スゲアマモ

東 義詔^{1)*}・川住清貴¹⁾・川窪伸光²⁾

¹⁾ 富山県中央植物園 〒 939-2713 富山県富山市婦中町上轡田 42

²⁾ 岐阜大学応用生物科学部 〒 501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1-1

Drifting plantlet of *Zostera caespitosa* collected at the cove of Kozakai Beach, Himi City, Toyama Prefecture, Japan

Yoshitsugu Azuma^{1)*}, Kiyotaka Kawazumi¹⁾ & Nobumitsu Kawakubo²⁾

¹⁾ Botanic Gardens of Toyama,
42 Kamikutsuwada, Fuchu-machi, Toyama 939-2713, Japan
*y-azuma@bgty.mn (corresponding author)

²⁾ Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University,
1-1 Yanagito, Gifu 501-1193, Japan

Abstract: We collected a drifting *Zostera* plantlet in living condition in the cove of Kozakai Beach, Himi City, Toyama Prefecture. Based on the morphological characteristics of rhizomes and leaves, the specimen was identified as *Zostera caespitosa* and a voucher specimen was prepared for the flora of the Toyama prefecture. Although we have studied the seagrass vegetation throughout the cove since 2016, we have never found *Z. caespitosa* there. The plantlet was considered to have originated from a population of *Z. caespitosa*, which has been reported to grow 260 m offshore of the cove. Vegetative reproduction by a detached plantlet is possible in *Z. caespitosa*.

Key Words: drifting seagrass, flora of Toyama, red data plant, Toyama bay, *Zostera caespitosa*

2018 年 4 月 24 日、著者らは、継続的にウミクサ類の野外調査を行っている富山県氷見市小境海岸の北入り江において、波打ち際から 5 m 程度離れた水深 50 cm の浅い海底付近を漂う見慣れないウミクサ類の生植物体を採集した(図 1A)。採集した植物体は、海水に浸した状態で富山県中央植物園の研究室に持ち帰り、バット中に浮かべ(図 1B)、全体の特徴を観察した。さらに分類学的に重要な葉の先端部は、実体顕微鏡で詳細に観察し、

ニコン製デジタルカメラ COOLPIX W300 で形態の撮影を行った。観察後、採集した植物体はさく葉標本にし、富山県中央植物園標本庫に収蔵した。

採集した植物体には、葉と根茎、根が認識できた。葉は線形で、その最大の長さは 22 cm、幅 4 mm、根茎の直径は約 2 mm、節間はほとんどなかった。根は直径約 0.1 mm で、20 mm 以下の長さで切れており、多くの根先端部分は黒褐色に変色していた。各部の

形態は、アマモ科 *Zosteraceae* アマモ *Zostera marina* L. に似ていたが、根茎の節間が短く詰まっている点、栄養枝がそう生ずる点、株元には枯れた葉基部が残る点、葉先端部が凹型に窪む点(図 1C)から、同科同属のスゲアマモ *Zostera caespitosa* Miki であると同定した。

スゲアマモは、北海道から本州、朝鮮半島や中国北部に生育し、太平洋岸では宮城県以北、日本海岸は島根県以北に分布している(田中 2015)。富山県では、富山県植物誌(太田ほか 1983)には記録がなく、富山市科学博物館にも県内産標本は所蔵されていなかった。県産ウミクサ類の一つとして初めてスゲアマモを記録したのは藤田(2001)で、氷見市から高岡市沿岸の砂地で認め、その後浦邊・松村(2005)も氷見市沿岸で観察している。最近では、浦邊(2017)が本種の現存量に季節的な変動が見られることを報告している。また、水中カメラを使った観察で、松村(2017)は富山湾西部の潮下帯、水深 8 m–14.7 m での生育を報告し、特に小境海岸から 260 m 沖合の水深 8.2 m から 420 m 沖の水深 12.3 m までの 3 地点で本種を確認・撮影している。

今回の採集地である小境海岸の入り江では、著者らが 2016 年 6 月から行ってきた素潜りによる直接観察においても、本種の生育が確認されたことはない(東・川窪 2016)。今回採集された漂流個体は、長期間漂流していたと思われるような葉の変色はなかったことから、採集地点から直線距離で 334 m の海底で確認されている小境のスゲアマモ群落が母集団で、潮汐による海水の移動に伴って入り江に漂流したものと考えられる。これまでの富山湾でのスゲアマモの報告は潜水調査による目視、あるいは水中カメラの映像によって同定されており、得られた標本も独立行政法人水産総合研究センター東北区水産研究所に送付されたため(浦邊・松村 2005)、資料として検討することができなかった。今

回の標本は、初めて公的標本庫(TYM)に収蔵されたもので、富山県フロラにスゲアマモを加える証拠標本として記録する意味がある。

一般的に、スゲアマモの生育環境は、主に水深 5 m 前後の潮下帯の砂泥であり、大潮の引き潮時でも植物体が大気中に出ることはない(大場・宮田 2007)。今回採集された漂流スゲアマモは、漂流元の母集団から栄養枝や根茎を伴って小植物体が出た事例であり、本種が母集団から離れた場所に、栄養繁殖によって分布を拡げて定着する可能性を示している。今後、小境海岸調査地における本種の漂流状況と分布状況を継続的に注視していく必要がある。

スゲアマモは環境省レッドリスト(2015)で準絶滅危惧(NT)と判定されている。隣県では石川県で、能登を中心に広く県下の海岸に分布し普通に見られる種であるが、近年減少傾向にあるという理由で県レッドリスト 2000 年版では準絶滅危惧種に指定され、2010 年版でも近年著しく減少しているという理由で同ランクに位置づけられている(石川県 2000, 2010)。富山県では、現時点での絶滅危険度は小さいが、生育地が西部に限られており、生育環境の変化によっては絶滅危惧種に移行する可能性があることから、同様に準絶滅危惧にランクするのが適当と思われる。

本研究を行うにあたり、氷見漁業協同組合には調査の実施にご理解とご協力いただきました。富山県農林水産総合技術センター水産研究所の松村航博士には、富山県におけるスゲアマモの分布および生態の助言や文献提供いただきました。また執筆にあたり富山県中央植物園園長中田政司博士には多くの助言をいただきました。ここに記してお礼申し上げます。

証拠標本：氷見市小境海岸、36.919226N,

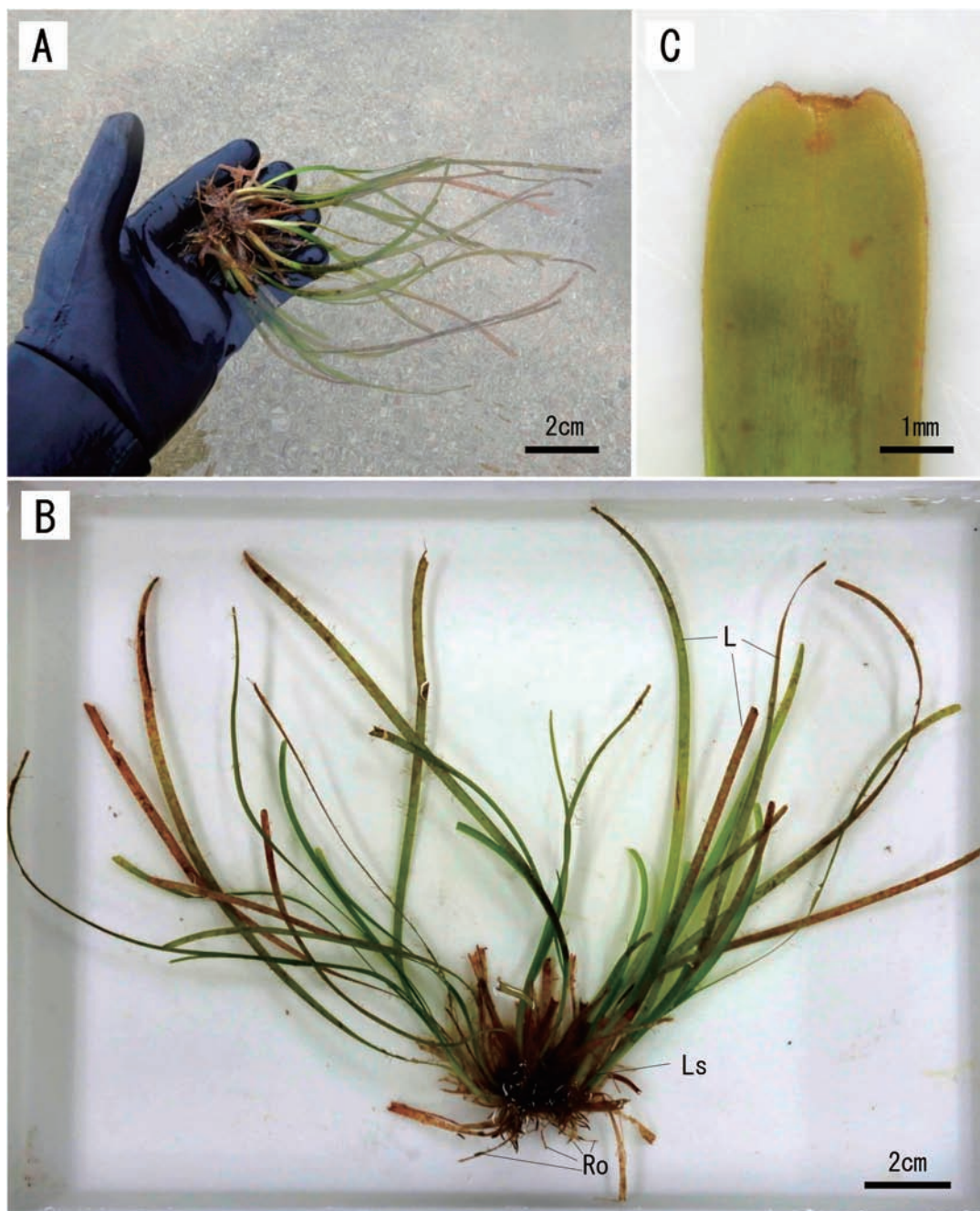


Fig. 1. Drifting plantlet of *Zostera caespitosa* in the infralittoral zone at Kozakai Beach, Himi City, Toyama Prefecture. A: *Z. caespitosa* collected from a water depth of 0.5 m on April 24, 2018. B: Habit. Leaf blade (L). Leaf sheath (Ls). Root (Ro). C: Leaf-tip of *Z. caespitosa*.

図1. 富山県小境海岸で漂流していたスゲアマモ。A: 2018年4月24日に水深0.5mで採集した植物体。B: 漂流スゲアマモ全体。葉身(L)。葉鞘(Ls)。根(Ro)。C: 葉の先端部。

137.02787E、水深 0.5 m、東義詔、2018.4.24 (TYM 060138)

引用文献

- 東 義詔・川窪伸光. 2016. 富山県氷見市小境海岸産ウミクサ類の生育状況. 富山県中央植物園研究報告 22: 1-8.
- 藤田大介. 2001. 氷見市・高岡市沿岸の海藻と藻場. 66p. 氷見漁業協同組合.
- 石川県環境安全部自然保護課(編). 2000. 石川県の絶滅のおそれのある野生生物〈植物編〉—いしかわレッドデータブック—. 358pp. 石川県.
- 石川県生活環境部自然保護課(編). 2010. 改訂・石川県の絶滅のおそれのある野生生物いしかわレッドデータブック〈植物編〉2010. 761pp. 石川県.
- 環境省自然環境局野生生物課希少種保全推進室(編). 2015. レッドデータブック 2014 —日本の絶滅のおそれのある野生生物— 8 植物 I (維管束植物). 646pp. ぎょうせい, 東京.
- 松村 航. 2017. 平成 28 年度富山湾リモートセンシング調査事業報告書. 99pp. 公益財団法人環日本海環境協力センター, 富山.
- 大場達之・宮田昌彦. 2007. 日本海草図譜. 114pp. 北海道大学出版会, 北海道.
- 大田 弘・小路登一・長井真隆. 1973. 富山県植物誌. 430pp. 至文堂, 富山.
- 田中法生. 2015. トチカガミ科. 大橋広好・門田裕一・木原 浩・邑田 仁・米倉浩司(編), 改訂新版 日本の野生植物 1. pp. 118-125. 平凡社, 東京.
- 浦邊清治・松村 航. 2005. アマモ場造成技術開発委託事業. 平成 16 年度富山県水産試験場年報Ⅱ調査研究事業実績の概要(水産研究所). pp. 55-56.
- 浦邊清治. 2017. 藻場調査. 平成 28 年度富山県農林水産総合技術センター水産研究所年報Ⅱ富山湾漁場環境調査(水産研究所). pp. 92-93.

BGT Plant Chromosome Reports

This column carries miscellaneous information on the chromosomes of plants, such as chromosome numbers, meiotic configurations, karyotypes, etc. Contributions are invited under following conditions;

- 1) The material(s) used in the report should be cultivated in the Botanic Gardens of Toyama, and/or the voucher specimen(s) of the materials will be conserved in the Botanic Gardens of Toyama (TYM).
- 2) The reports should be consisted of “Materials and methods” and “Results”. Omission or minimum description of “Introduction”, “Discussion”, and “Literature cited” are preferable. Authors require to prepare manuscripts consulting recent style of the column.
- 3) Description volume on each taxon in the report should not excess one printed page including table(s) and figure(s).

○ Kousuke INABA¹⁾ & Masashi NAKATA^{2)*}: **Karyotypes in four *Ligularia* species of Japan**

Four *Ligularia* species were collected in their natural habitat (Table 1) with required permissions, and cultivated in the experimental garden of the Hiroshima University (Senda Campus, at that time). Chromosome observations were made on root tip cells using traditional squashing method after pretreatment with 2 mM hydroxiquinoline solution for 3.5 h (20°C), fixation with acetic alcohol (99.5% ethanol : glacial acetic acid = 2 : 1 (v/v)) for 3 h

Table 1. Localities and chromosome numbers of the four *Ligularia* species studied.

Species / Locality	Number of plants observed	Chromosome number (2n)
<i>Ligularia fischeri</i> (Ledeb.) Turcz.		
Kita-hiroshima-cho (formerly Geihoku-cho), Yamagata-gun, Hiroshima Pref.	4	58
Hatsukaichi City, (formerly Yoshiwa-mura, Saeki-gun), Hiroshima Pref.	2	58
<i>L. hodgsonii</i> Hook.f.		
Onneto, Nemuro City, Hokkaido	3	58
<i>L. japonica</i> (Thunb.) Less.		
Kita-hiroshima-cho (formerly Geihoku-cho), Yamagata-gun, Hiroshima Pref.	3	58
Aki-ohta-cho (formerly Togouchi-cho), Yamagata-gun, Hiroshima Pref.	1	58
<i>L. stenocephala</i> (Maxim.) Matsum. et Koidz.		
Mt. Ishizuchi, Saijo City, Ehime Pref.	2	58

(4°C), maceration in a 2 : 1 mixture (v/v) of 45% acetic acid and 1 mol/l hydrochloric acid for 15 sec (60°C), and staining with 2% acetic orcein. Description of chromosome morphology followed Levan *et al.* (1964) and Tanaka (1977). Taxonomic treatment followed Ohwi and Kitagawa (1983). Voucher specimens and/or photographs were deposited in the Botanic Gardens of Toyama (TYM).

1. *Ligularia fischeri* (Ledeb.) Turcz. (Fig. 1)

The interphase nuclei in sister cells, measuring $16.1 \pm 0.9 \mu\text{m}$ in diameter (mean $\pm$ S.D., $n = 10$, the same hereinafter), were stained darkly and had numerous chromomeric granules of 0.3–0.5 μm in diameter and condensed chromatin blocks of 1.0 μm in size. The nucleus was categorized in the densely diffuse type (Tanaka 1977).

At prophase the chromosomes were darkly stained homogeneously, and considered to be the continuous type (Tanaka 1977).

At mitotic metaphase, $2n = 58$ chromosomes were counted in six individuals from two localities. They varied in length from 1.9 to 4.0 μm (mean: 2.8 μm), showing gradual size variation. Satellites were observed on the short arms of the largest two submetacentric chromosomes (nos. 2 and 3) and the short arms of medium-sized two submetacentric chromosomes (nos. 23 and 27). The chromosomes complement was consisted of 22 metacentric chromosomes, 28 submetacentric chromosomes, and eight subtelocentric chromosomes, thus the chromosome formula was designated as $2n = 58 = 22m + 24sm + 4sm^{SC} + 8st$.

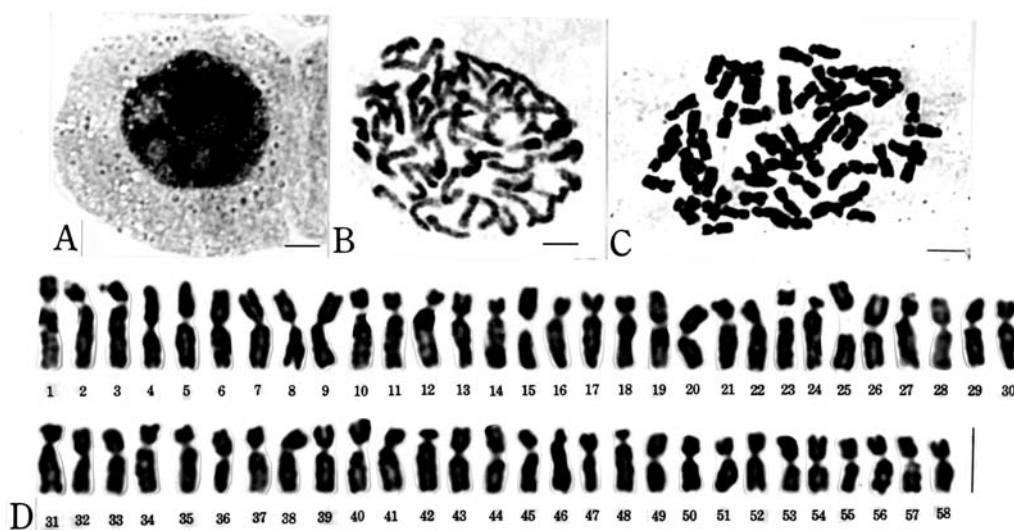


Fig. 1. Somatic chromosomes of *Ligularia fischeri* ($2n = 58$). A, Interphase; B, Prophase; C, Metaphase. D, Individual chromosomes arranged in order of length. The chromosomes nos. 2, 3, 23, and 27 carry satellites on the short arms. Bars indicate 3 μm .

2. *Ligularia hodgsonii* Hook. f. (Fig. 2)

The interphase nuclei in sister cells, measuring $15.7 \pm 1.3 \mu\text{m}$ in diameter, were stained darkly and had numerous chromomeric granules of $0.3\text{--}0.5 \mu\text{m}$ in diameter and condensed chromatin blocks of $0.9 \mu\text{m}$ in size. The nucleus was categorized in the densely diffuse type (Tanaka 1977).

The prophase chromosomes were darkly stained homogeneously, with 3–6 small constrictions, and considered to be the continuous type (Tanaka 1977).

At mitotic metaphase, $2n = 58$ chromosomes were counted in three individuals from a locality. They varied in length from 2.4 to $4.4 \mu\text{m}$ (mean: $3.3 \mu\text{m}$), showing gradual size variation. Satellites were observed on the short arms of the largest two submetacentric chromosomes (nos. 3 and 4) and the short arms of medium-sized two submetacentric chromosomes (nos. 15 and 22). The chromosomes complement was consisted of 24 metacentric chromosomes, 26 submetacentric chromosomes, and eight subtelocentric chromosomes, thus the chromosome formula was designated as $2n = 58 = 24m + 22sm + 4sm^{sc} + 8st$.

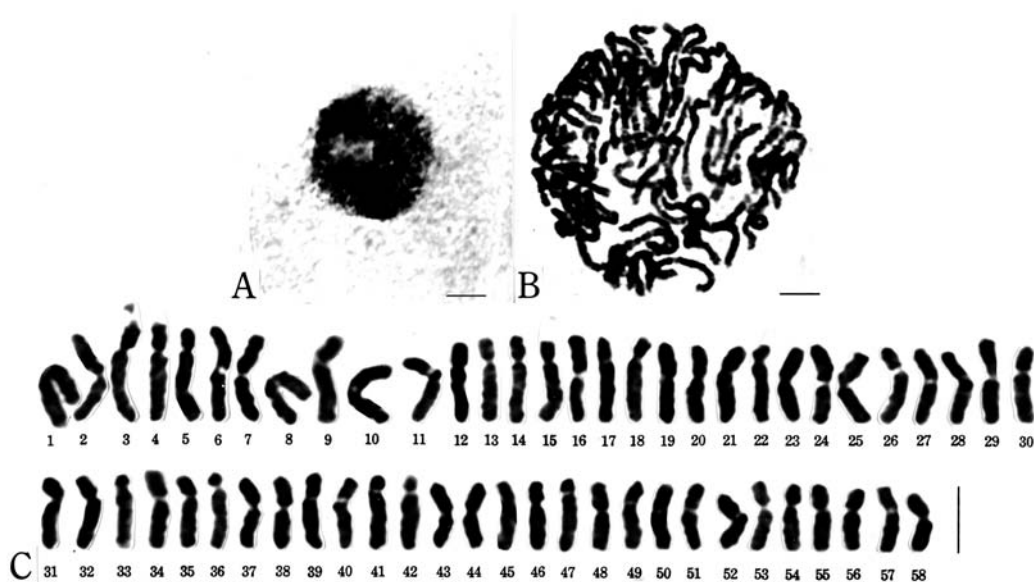


Fig. 2. Somatic chromosomes of *Ligularia hodgsonii* ($2n = 58$). A, Interphase; B, Prophase; C, Individual chromosomes arranged in order of length. The chromosomes nos. 3, 4, 15, and 22 carry satellites on the short arms. Bars indicate $3 \mu\text{m}$.

3. *Ligularia japonica* (Thunb.) Less. (Fig. 3)

The interphase nuclei in sister cells, measuring $17.5 \pm 1.1 \mu\text{m}$ in diameter, were stained darkly and had numerous chromomeric granules of $0.3\text{--}0.4 \mu\text{m}$ in diameter and condensed

chromatin blocks of 0.9 μm in size. The nucleus was categorized in the densely diffuse type (Tanaka 1977).

The prophase chromosomes were darkly stained homogeneously, with 3–6 small constrictions, and considered to be the continuous type (Tanaka 1977).

At mitotic metaphase, $2n = 58$ chromosomes were counted in four individuals from two localities. They varied in length from 2.8 to 4.9 μm (mean: 3.9 μm), showing gradual size variation. Satellites were observed on the short arms of the largest two submetacentric chromosomes (nos. 1 and 2). The chromosomes complement was consisted of 22 metacentric chromosomes, 28 submetacentric chromosomes, and eight subtelocentric chromosomes, thus the chromosome formula was designated as $2n = 58 = 22m + 26sm + 2sm^{SC} + 8st$.

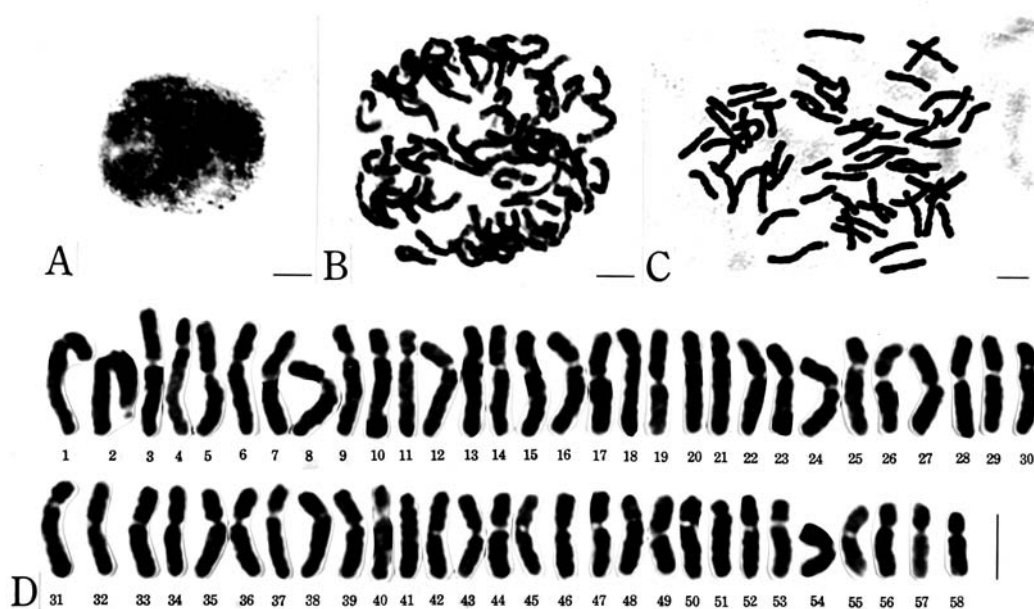


Fig. 3. Somatic chromosomes of *Ligularia japonica* ($2n = 58$). A, Interphase; B, Prophase; C, Metaphase; D, Individual chromosomes arranged in order of length. The chromosomes nos. 1 and 2 carry satellites on the short arms. Bars indicate 3 μm .

4. *Ligularia stenocephala* (Maxim.) Matsum. et Koidz. (Fig. 4)

The interphase nuclei in sister cells, measuring $14.8 \pm 1.4 \mu\text{m}$ in diameter, were stained darkly and had about 30 chromomeric granules of 0.3–0.5 μm in diameter. The nucleus was categorized in the densely diffuse type (Tanaka 1977).

The prophase chromosomes were darkly stained homogeneously, with 3–6 small constrictions, and considered to be the continuous type (Tanaka 1977).

At mitotic metaphase, $2n = 58$ chromosomes were counted in two individuals from a locality. They varied in length from 2.9 to 5.2 μm (mean: 3.8 μm), showing gradual size

variation. Satellites were observed on the short arms of medium-sized two submetacentric chromosomes (nos. 17 and 22). The chromosomes complement was consisted of 22 metacentric chromosomes, 28 submetacentric chromosomes, and eight subtelocentric chromosomes, thus the chromosome formula was designated as $2n = 58 = 22m + 26sm + 2sm^{SC} + 8st$.

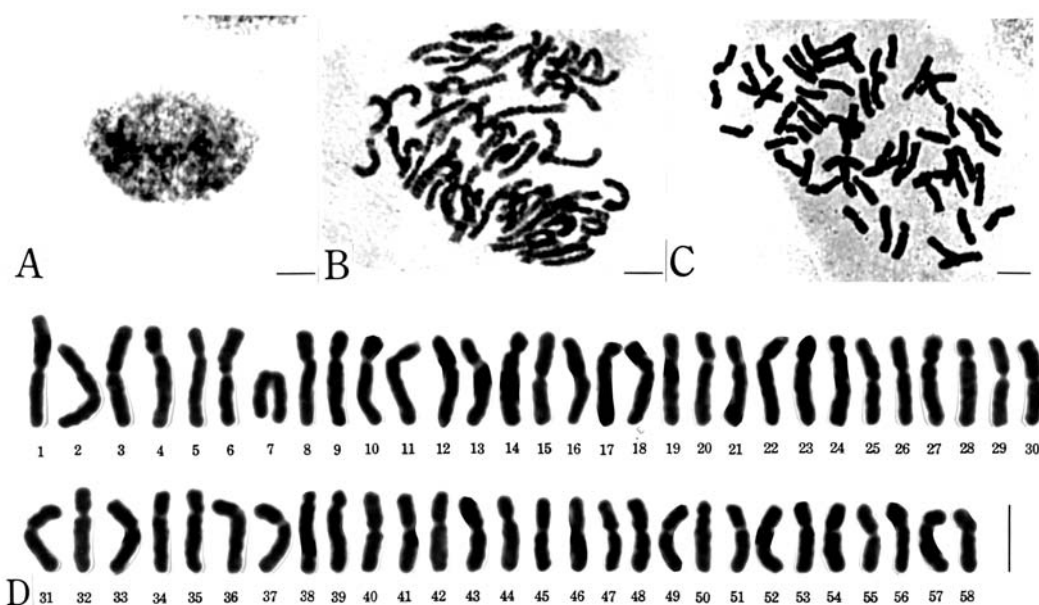


Fig. 4. Somatic chromosomes of *Ligularia stenocephala* ($2n = 58$). A, Interphase; B, Prophase; C, Metaphase. D, Individual chromosomes arranged in order of length. The chromosomes nos. 17 and 22 carry satellites on the short arms. Bars indicate 3 μ m.

The present observations were made in 1986–1987 under the guidance of Professor Ryuso Tanaka. The authors are grateful to the late Dr. Ryuso Tanaka. We thank Dr. T. Funamoto and Mr. M. Ogawa for providing materials.

Literature cited

- Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201–220.
- Ohwi, J. & Kitagawa, M. 1983. *New Flora of Japan*. Shibundo, Tokyo. (in Japanese)
- Tanaka, R. 1977. Recent karyotype studies. In: Ogawa, K., Kuroiwa, K., Koike, S. & Sato, S. (eds.), *Plant Cytology*. pp. 293–326. Asakura Book Co., Tokyo. (in Japanese)

¹⁾ Hyogo Prefectural Ono Senior High School; 518 Nishihonmachi, Ono City, Hyogo 675-1375, Japan.

²⁾ Botanic Gardens of Toyama; 42 Fuchumachi-Kamikutsuwada, Toyama City, Toyama 939-2713, Japan.
(*corresponding author; nakata@bgtym.org)

稲葉浩介¹⁾・中田政司²⁾: 日本産メタカラコウ属4種の核型

オタカラコウ、トウゲブキ、ハンカイソウ、メタカラコウの根端分裂組織における染色体を観察した。4種とも間期核は濃分散型、分裂期前期染色体は連続型、染色体数は $2n=58$ で共通していた。核型構成も互いによく似ており、核型式はオタカラコウが $2n=58=22m+24sm+4sm^{SC}+8st$ 、トウゲブキが

$2n=58=24m+22sm+4sm^{SC}+8st$ 、ハンカイソウが $2n=58=22m+26sm+2sm^{SC}+8st$ 、メタカラコウが $2n=58=22m+26sm+2sm^{SC}+8st$ であった。

(¹⁾ 〒675-1375 兵庫県小野市西本町518 兵庫県立小野高等学校・(²⁾ 〒939-271 富山市婦中町上轡田42 富山県中央植物園)

富山県中央植物園研究報告投稿規定（平成 30 年 12 月 10 日部分改定）

1. 投稿資格

論文を投稿できる者は、原則として富山県中央植物園および富山県植物公園ネットワークを構成する専門植物園の職員とする。ただし次の場合は職員外でも投稿することができる。

- 1) 富山県中央植物園の収集植物または標本を材料とした研究。
- 2) 研究に用いた植物または標本を富山県中央植物園に寄贈する場合。
- 3) 富山県の植物に関する調査・研究の場合。
- 4) 編集委員会が投稿を依頼した場合。

2. 原稿の種類

原稿は英文または和文で、原著（Article）、短報（Note）、資料（Miscellaneous）、富山県中央植物園植物染色体報告（BGT Plant Chromosome Reports）とする。

3. 原稿の送付

原稿は、図、表、写真を含め 2 部（コピーでよい）を「〒 939-2713 富山県富山市婦中町上轡田 42 富山県中央植物園 研究報告編集委員会」宛送付する。掲載が決定した原稿には本文、図表が記録された電子媒体を添付する。原稿は返却しない。

4. 原稿の採否

投稿原稿の採否は、査読者の意見を参照して編集委員会が決定する。編集委員長が掲載を認めた日をもって論文の受理日とする。

5. 著作権

掲載された論文の著作権は富山県中央植物園に帰属する。

6. 原稿の書き方

- (1) 原稿用紙：原稿はワープロを用い、和文は A 4 判用紙に 1 行 40 字、1 頁 30 行を標準とする。欧文原稿は A 4 判用紙に周囲 3cm の余白を設け、1 頁 25 行を標準とする。
- (2) 体裁：原著論文の構成は以下の通りとする。ただし短報等はこの限りではない。
 - a. 表題、著者名、所属、住所、連絡先メールアドレス（共著の場合は責任著者のみ）：和文原稿の場合は、英文も記す。欧文原稿の場合、和文は不要。共著の場合、責任著者（corresponding author）の氏名と連絡先をアスタリスク（*）で明示する。
 - b. 英文要旨（Abstract）とキーワード（Key words）：英文要旨は 200 語以内、キーワードは 10 語以内としアルファベット順に配列する。
 - c. 本文：序論、材料と方法（Materials and methods）、結果（Results）、考察（Discussion）、謝辞の順を標準とする。序論、謝辞には見出しをつけない。脚注は用いない。補助金関係は謝辞の中に記す。
 - d. 和文摘要：欧文原稿の場合、表題、著者名、摘要本文、住所、所属の順で和文摘要をつける。
 - e. 引用文献（Literature cited）：著者名のアルファベット順に並べる。
 - f. その他、体裁の詳細は最近号を参照する。
- (3) 図表：図（写真を含む）表は刷り上がり 140 × 180mm、または 65 × 180mm 以内とし、原図のサイズは刷り上がりと同寸以上とする。図は A 4 紙に仮止めし、余白に天地、著者名、図表の番号を記入する。説明文はまとめて別紙に記す。カラー図版は、編集委員会が特に必要と認めたもの以外は実費著者負担とする。図表の挿入位置を原稿の右余白に指示する。図表は電子ファイルを提出する。図の解像度は 300dpi 以上であること。
- (4) 単位の表示：国際単位系（SI）による。単位の省略形は単数形とし、ピリオドをつけない。

7. 校正

著者校正は初校のみとし、再校以降は編集委員会が行なう。

8. 投稿票

投稿に際して A 4 判の投稿票を添える（次頁を参照）。

富山県中央植物園研究報告 投稿票 (A4)

受 理 日	※ 年 月 日	採 用	※ 可 ・ 否
種別 (○で囲む)	原著 ・ 短報 ・ 資料 ・ 編集委員会に一任		
著 者 名			
	(ローマ字)		
所属のある方	(機関名)		
	(所在地)		
論文表題	(和)		
	(英)		
原 稿	本文 枚 図 枚 表 枚	図表返却希望 : する・しない	
ランニングタイトル	著者名を含めて和文は 25 字、英文は 50 字以内		
連絡先 住所・氏名 (共著の場合は代表者)	〒 - TEL FAX E-mail		
別刷り希望部数 (50 の倍数)	部 (うち 50 部までは無償)		

※印の欄は編集委員会で記入します

Contents (目次)

Articles (原著)

- Tadashi Kanemoto: Chromosome number of *Elatostema lineolatum* var. *majus* (Urticaceae) from Taiwan 1
兼本 正：台湾産ホソバノキミズの染色体数
- 志内利明・高橋一臣：アオキの種子発芽と発芽後の雌雄の開花特性 5
Toshiaki Shiuchi & Kazuomi Takahashi: Seed germination and sexual differences in flowering of seedlings in *Aucuba japonica*
- 志内利明・魯元学・李景秀・管開雲・高橋一臣・中田政司：中国雲南省大圍山における *Begonia versicolor* の生息地と個体群に関する記録、特に耐寒性と分布様式について 15
Toshiaki Shiuchi, Yuanxue Lu, Jingxiu Li, Kaiyun Guan, Kazuomi Takahashi & Masashi Nakata: Notes on the habitat and population of *Begonia versicolor* on Dawei Mountain, Yunnan Province, China, with special reference to cold resistance and spatial distribution patterns
- Toshinari Godo, Yoichiro Hoshino & Takaaki Oohara: Shoot propagation and regenerable callus production from meristems derived from axillary buds in *Prunus campanulata*, a subtropical tree species 27
神戸敏成・星野洋一郎・大原隆明：リュウキュウカンヒザクラの成長点からのシュートおよび再分化能を有するカルスの形成

Note (短報)

- 東 義詔・川住清貴・川窪伸光：富山県氷見市小境海岸で採集された漂流スゲアマモ 37
Yoshitsugu Azuma, Kiyotaka Kawazumi & Nobumitsu Kawakubo: Drifting plantlet of *Zostera caespitosa* collected at the cove of Kozakai Beach, Himi City, Toyama Prefecture, Japan

BGT Plant Chromosome Reports (富山県中央植物園植物染色体報告)

- Kousuke Inaba & Masashi Nakata: Karyotypes in four *Ligularia* species of Japan 41
稲葉浩介・中田政司：日本産メタカラコウ属 4 種の核型

- 投稿規定 i
投稿票 ii

All inquiries concerning
the Bulletin of the Botanic Gardens of Toyama
should be addressed to the Editor:
Masashi Nakata
Botanic Gardens of Toyama
42 Kamikutsuwada, Fuchu-machi,
Toyama 939-2713,
JAPAN

富山県中央植物園研究報告 第 24 号

発 行 日	平成 30 年 12 月 28 日
編集兼発行	富山県中央植物園 園長 中田 政 司 〒 939-2713 富山県富山市婦中町上轡田 42
発 行 所	公益財団法人 花と緑の銀行 〒 939-2713 富山県富山市婦中町上轡田 42
印 刷 所	冊子印刷ドットコム 〒 630-8126 奈良県奈良市三条栄町 9-18
