

短報 Short Report

広島県東部産アズマレイジンソウ *Aconitum pterocaule* Koidz. (キンポウゲ科) の染色体観察

山本晃弘¹⁾・濱谷修一¹⁾・和崎淳²⁾・世羅徹哉³⁾

Observation of Mitotic Chromosomes in *Aconitum pterocaule* Koidz. (Ranunculaceae) from Eastern Hiroshima Prefecture

Akihiro Yamamoto¹⁾, Shuichi Hamatani¹⁾, Jun Wasaki²⁾ and Tetsuya Sera³⁾

摘要

広島県東部産アズマレイジンソウ *Aconitum pterocaule* Koidz. の体細胞分裂中期染色体を観察した結果、染色体数は $2n = 16$ であり、過去の報告と一致した。一方、核型分析における腕比や付随体の有無には、従来の報告と異なる特徴が認められた。本研究では本個体をアズマレイジンソウとして扱ったが、広島県東部に自生する集団の分類学的取り扱いについては、以前から再評価の必要性が指摘されている。今後は形態学的特徴と分子系統解析等の手法を組み合わせた総合的解析により、分類学的な位置づけを再検討することが望まれる。

キーワード：核型解析，細胞遺伝学，染色体数，体細胞染色体

Summary

The somatic metaphase chromosomes of *Aconitum pterocaule* Koidz. from eastern Hiroshima Prefecture were examined, revealing a chromosome number of $2n = 16$, which is consistent with previously reported numbers. However, the arm ratios and satellite presence determined via karyotype analysis differed from those previously reported. In this study, the specimen was treated as *A. pterocaule*; however, the classification of this specimen within Hiroshima Prefecture requires reconsideration. Future comprehensive evaluations combining morphological traits and molecular phylogenetic analyses are required to reassess their taxonomic position.

Keywords: Chromosome number, cytogenetics, karyotype analysis, mitotic chromosomes

緒言

アズマレイジンソウ *Aconitum pterocaule* Koidz. (キンポウゲ科) は、温帯林の林縁や明るい林床に生育する多年草で、東北地方から近畿地方にかけての太平洋側 (門田・西川 2016)、および広島県に分布している (広島県 2022; 広島県東城町植物

誌編纂委員会 2014; 世羅ほか 2010)。

広島県内では、県東部の個体はアズマレイジンソウ、県西部の個体はレイジンソウ *Aconitum loczyanum* Rapaics として報告されている (窪田・藤井 2007; 広島県東城町植物誌編纂委員会 2004; よしわまなびの森資料検討委員会植物部会 2001)。これらの報告を踏まえ、本種の分類には再検討の

* Contribution from the Hiroshima Botanical Garden, No. 120

1) 広島市植物公園: the Hiroshima Botanical Garden
2) 広島大学: Hiroshima University
3) 広島市安佐南区: Asaminami-ku, Hiroshima-shi

必要性が指摘されているものの、現状では広島県産のものはアズマレイジンソウとしてまとめて扱われている（世羅ほか 2010）。

アズマレイジンソウの染色体数については、長野県戸隠山産の個体で $2n = 16$ であることが報告されているが（栗田 1955）、広島県産個体に関する染色体情報は未記録である。なお、*Aconitum* 属の分子系統学的研究はあるものの（Luo et al. 2005；中屋敷・出羽 2014）、広島県内の本種の遺伝的特徴は十分に解明されていない。

そこで本研究では、広島県東部で採集された個体をアズマレイジンソウとして扱い、その核型分析を行うとともに、核 DNA の ITS 領域の配列比較を補足的に示すことで、今後の分類学的検討に

資する基礎的資料を提供することを目的とした。

調査方法

染色体の観察には、広島市植物公園内で栽培している広島県東部産の個体の根端を用いた（Voucher specimen; HIBG-25723）。これらの個体は、著者の一人である世羅が、2021年9月26日に採取した種子を発芽させたものである（図 1A）。根端を 2 mM の 8-ヒドロキシキノリン液で $20^{\circ}\text{C} \cdot 1$ 時間、 $5^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 時間の前処理をしたのち、 -20°C の酢酸エタノール（1:3）で 15 時間以上固定した。その後、 60°C の 1 N 塩酸：45% 酢酸 = 2：1 の混合液で 30 秒間加水分解して、2% 酢酸オ



図 1. 広島県東部産アズマレイジンソウ。

A：開花個体の様子（2021年9月26日撮影）。 B：体細胞分裂中期の染色体。矢印は付随体，スケールバーは $10\ \mu\text{m}$ を示す C：相同染色体を考慮しながら、大きい順に染色体を並べたもの。矢印は付随体，バーは $10\ \mu\text{m}$ を示す

Figure 1. *Aconitum pterocaule* in Eastern Hiroshima Prefecture, western Japan (26 September 2021)

A: Flowers of *A. pterocaule* examined in this study.

B: Chromosomes in mitotic metaphase. Arrowheads indicate satellites, and scale bar represents $10\ \mu\text{m}$.

C: Chromosomes arranged in decreasing size, considering homologous chromosomes. Arrowheads indicate satellites, and scale bar represents $10\ \mu\text{m}$.

ルセインで染色し、押しつぶし法により観察した。核形態学的分類は田中（1980）に、分裂期中期染色体の配列と説明は Levan et al.（1964）に従った。

また、CTAB 法（Murray and Thompson 1980）により葉身から DNA を抽出し、核 DNA の ITS 領域の塩基配列を対象としたプライマーセット（18S1659B, 26S166BR; Oguri et al. 2013）を用いて DNA バーコーディングを行い、得られた配列は BLAST 検索を用いて、データベース上の配列との比較を行った。

結果

体細胞分裂中期の染色体から、染色体数は $2n = 16$ と算定された（図 1B, 表 1）。相同染色体を考慮して大きい順に並べると、染色体長は $14.7 \mu\text{m}$ から $5.2 \mu\text{m}$ で、漸減的で単相的、または大きな 4 個の染色体と 12 個の小さな染色体からなる二相的

な核型と評価された（図 1C, 表 2）。腕比による核型式は $K(2n) = 16 = 2m + 6sm + 8st$ であった。付随体については、最大の染色体である Nos. 1–2、最小の染色体である Nos. 15–16 に観察された。付随体の大きさは、Nos. 1–2 ではそれぞれ $0.2 \mu\text{m}$, $0.3 \mu\text{m}$, Nos. 15–16 ではそれぞれ $0.5 \mu\text{m}$, $0.3 \mu\text{m}$ であり、細胞によっては不明瞭な場合も認められた。付随体長の染色体長に対する割合（付随体長 / 染色体長）は、Nos. 1–2 でそれぞれ 1.4%, 2.0%, Nos. 15–16 でそれぞれ 8.8%, 5.8% であった。

DNA バーコーディングの結果、778 bp の配列を得た（LC917521.1）。この配列を用いて、NCBI データベースに登録されている塩基配列と比較したところ、アズマレイジンソウ（LC036439.1; 日本産）とは 639/647（99%）の相同性を示し、近縁種であるレイジンソウの 2 配列（LC152812.1; 高知県産, LC456229.1; 福岡県産）とはそれぞれ

表 1. 調査を行ったアズマレイジンソウの染色体数

Table 1. Chromosome numbers of *Aconitum pterocaule* examined in this study

Species	Chromosome number (2n)		References
	Present count	Previous count	
アズマレイジンソウ <i>A. pterocaule</i>	16	16	Kurita 1955

表 2. 調査を行ったアズマレイジンソウの体細胞染色体長

Table 2. Somatic chromosome length of *Aconitum pterocaule* examined in this study

Chromosome	Length			Relative length (%)	Arm ratio	Form
	Total (μm)	Short arm (μm)	Long arm (μm)			
1	14.7	0.2* + 6.7	7.8	10.2	1.12	m
2	14.4	0.3* + 6.8	7.3	10.0	1.03	m
3	12.5	4.0	8.5	8.7	2.13	sm
4	12.0	4.2	7.8	8.4	1.84	sm
5	9.0	1.5	7.5	6.3	4.99	st
6	8.8	1.5	7.2	6.1	4.74	st
7	8.6	1.9	6.8	6.0	3.66	st
8	8.4	1.5	6.9	5.9	4.71	st
9	8.5	2.7	5.8	5.9	2.17	sm
10	8.0	2.5	5.5	5.6	2.17	sm
11	7.9	1.4	6.5	5.5	4.68	st
12	7.2	1.0	6.2	5.0	6.36	st
13	6.8	1.6	5.2	4.7	3.37	st
14	6.2	1.3	5.0	4.3	3.99	st
15	5.7	0.5* + 1.1	4.1	4.0	2.65	sm
16	5.2	0.3* + 1.3	3.6	3.6	2.26	sm

* Satellite length

Chromosome numbers correspond to those shown in Figure 1C.

表 3. 広島県東部産アズマレイジンソウの ITS 領域における塩基置換一覧

Table 3. Nucleotide substitutions in ITS region of *Aconitum pterocaulle* from eastern Hiroshima Prefecture

Position	<i>A. pterocaulle</i> eastern Hiroshima individual (LC917521.1)	<i>A. pterocaulle</i> (LC036439.1)	<i>A. loczyanum</i> (LC152812.1)	<i>A. loczyanum</i> (LC456229.1)	Notes / Comments
114	A	G	R	G	Single base substitution
168–169	GA	AC	GC	AC	Substitution or insertion over 2 bases
199	G	G	G	T	Single base substitution
225–230	AAAAAA	AAAAA	AAAAA	AAAAA	Six-adenine homopolymer unique to Hiroshima individual
239	C	C	C	T	Single base substitution
275	G	C	C	C	Single base substitution
411	C	C	C	T	Single base substitution
455	T	C	C	C	Single base substitution
468	C	T	T	T	Single base substitution observed in all three sequences
515	A	T	A	A	Single base substitution

Notes:

Position numbers correspond to nucleotide positions in the individual sequence from eastern Hiroshima.

Ranges such as “168–169” or “225–230” indicate substitutions or insertions spanning multiple bases.

IUPAC code “R” denotes polymorphism where A or G may occur (observed in LC152812.1).

Bases in **bold** indicate differences relative to eastern Hiroshima individual, which served as the reference sequence.

641/647 (99%) および 637/647 (98%) の相同性を示した。塩基配列をアラインメントして比較した結果、複数の塩基置換に加えて、同一塩基が連続するホモポリメリック A 配列の長さ多型が確認された (表 3)。例えば、114 番塩基位置では広島県東部産個体は A, LC036439.1 は G, LC152812.1 は多型 (R; A/G), LC456229.1 は G であった。また、225–230 番位置に存在する A のホモポリマーについては、多くの比較配列が 5 つの A (AAAAA) であったのに対し、広島県東部産個体のみ A が 6 つ連続する (AAAAAA) 配列を示した。

考察

染色体長および腕比の相同性から二倍体であると考えられる。今回の観察では、アズマレイジンソウの既報 (栗田 1955) と同じ染色体数が得られた。核型は漸減的で単相的または二相的と評価され、栗田 (1955) が示す模式図とも類似していた

が、いくつかの相違も認められた。栗田 (1955) は、Nos. 1–2, 9–10, 15–16 に相当する染色体に付随体がみられると報告しているが、本研究で確認されたのは Nos. 1–2 および 15–16 の 4 個の染色体であった。また、栗田 (1955) は最大染色体である Nos. 1–2 に相当する染色体について、「常に容易に観察することができる」付随体を有すると報告している。そこで付随体長の割合 (付随体長 / 染色体長) を比較したところ、栗田 (1955) ではそれぞれ 8.8%, 5.8% であったのに対し、本調査では、Nos. 1–2 でそれぞれ 1.4%, 2.0% と、比較的小さい値を示した (図 1B, C)。一方、最小染色体である Nos. 15–16 と栗田 (1955) の染色体の付随体を比較したところ、大きな差異は認められなかった。今回確認された差異は、観察個体間の変異によるものかもしれないが、異なる分類群の可能性を否定できない。

ITS 領域の塩基配列解析では、広島県東部産個体において、既報アズマレイジンソウやレイジン

ソウとは一致しない複数の塩基変異が確認された(表3)。これにより、広島県東部産個体には一定のITS配列多型が存在する可能性が示唆された。

広島県内では、県東部産個体と県西部産個体は形態的に類似しており(世羅ほか2010)、西部産個体についてはアズマレイジンソウとレイジンソウの自然交雑種(フジレイジンソウ)の可能性も指摘されている(窪田・藤井2007)。今回の広島県東部産個体についての結果を踏まえ、今後は形態学的特徴と分子遺伝学的解析を組み合わせた総合的評価が必要である。

謝辞

本稿をまとめるにあたり、矢野興一博士には染色体観察について助言をいただいた。小田多美恵氏には広島県西部産のレイジンソウに関する情報を提供していただいた。記して御礼申し上げる。

引用文献

- 門田裕一・西川恒彦2016. キンポウゲ科 Ranunculaceae. 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2. pp. 119–170. 平凡社, 東京.
- 窪田正彦・藤井英男2007. 廿日市市のレイジンソウ亜属の植物(キンポウゲ科). 比婆科学 **224**: 25–27.
- 栗田正秀1955. キンポウゲ科の細胞学的研究Ⅲ ヒエンソウ属, レイジンソウ属及びトリカブト属における数種の核型. 植物学雑誌 **68**: 248–251. <https://doi.org/10.15281/jplantres1887.68.248>
- Levan, A., Fredga, K., and Sandberg, A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* **52**: 201–220. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x>
- Luo, Y., Zhang, F. and Yang, Q. 2005. Phylogeny of *Aconitum* subgenus *Aconitum* (Ranunculaceae) inferred from ITS sequences. *Plant Systematics and Evolution* **252**: 11–25. <https://doi.org/10.1007/s00606-004-0257-5>
- Murray, M., and Thompson, W. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* **8**: 4321–4325. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>
- 中屋敷徳・出羽厚二2014. 東北および北海道産トリカブト属植物の遺伝学的解析. DNA多型 **22**: 66–68.
- 広島県2022. 広島県の絶滅のおそれのある野生生物(第4版) レッドデータブックひろしま2021. <https://www.pref.hiroshima.lg.jp/site/tayousei/j-j2-reddata2-index3.html> (2025年11月11日参照)
- 広島県東城町植物誌編纂委員会(編)2014. 広島県東城町植物誌. 558 pp. 比婆科学教育振興会, 東城.
- Oguri, E., Yamaguchi, T., Tsubota, H., Deguchi, H. and Murakami, N. 2013. Geographical origin of *Leucobryum boninense* Sull. & Lesq. (Leucobryaceae, Musci) endemic to the Bonin Islands, Japan. *Ecology and Evolution* **3**: 753–762. <https://doi.org/10.1002/ece3.492>
- 世羅徹哉・坪田博美・松井健一・浜田展也・吉野由紀夫. 2010. 広島県植物誌補遺. 広島市植物公園紀要 **28**: 1–74.
- 田中隆荘1980. 核型. 植物遺伝学 I. pp. 335–358. 裳華房, 東京.
- よしまなびの森資料検討委員会植物部会(編)2001. よしわの植物ガイド. 233pp. 吉和村, 吉和.