

大悟法 滋*: ペーパークロマト法によるイノデ類
の雑種とその推定両親種について

Sigeru DAIGOBO*: Paper chromatographical studies on the
hybrids and their putative parents in the Japanese
Polystichum polyblepharum group

日本のイノデ類 *Polystichum polyblepharum* group において、これまで 26 の自然雑種が報告されている (倉田, 1964, 1969)。これらはいずれも外部形態と生育状態の観察からその両親種が推定されている。その雑種性については、胞子の観察から裏づけられるし (志村, 1964, 1970, 大悟法, 1967)、減数分裂時の染色体行動の観察で確認することもできる (三井, 1968)。しかしながら、両親種の判定については、今のところ外部形態と生育状況に頼るだけである。多くの場合、生育地での観察によってこれらの両親種を推定することはそれほど難しくなく、今までの推定はまず妥当なところと考えられるけれども、実際には、両親種の形質がうまく兼備されているような典型的な形でない、たとえ生育地での観察でも判定のつけにくいものが出てくるし、さらに、腊葉標本で雑種を調べるような場合には、かなり判断の難しいものが多くなる。このような雑種の両親種判定の 1 つの方法として、ペーパークロマト法による成分の比較が行なわれており、シダ類でも 2, 3 のグループで興味深い結果が報告されている。そこで、イノデ類の雑種について、簡単なペーパークロマト法によって、形態からの両親種推定の裏づけが可能かどうか試してみた。

材料と方法 日本産のイノデ類のうち雑種とその推定両親種およびその近縁種、13 種 2 変種 26 雑種を含む、約 80 個体の腊葉標本を材料とした。なお、時期や産地などによる成分の違いを考慮して、2 年以内に採集した加熱乾燥していない標本で成熟した胞子のうをつけた葉を対象とし、各種とも原則として産地の異なる数個体について調べた。また、簡略な腊葉標本での比較ということで裂片数枚を目安とし、各種とも胞子のうを取り除いた裂片の乾重 0.1 g を 1 試料とした。ペーパークロマト法は、今までイノデ属シダの成分に関する研究がほとんどないため、他の属のシダを材料にした Smith & Levin (1963) と Scora & Wagner (1964) の方法を参考にした。抽出は 0.1 g の粉末試料を 1 規定塩酸にメタノール 1% を加えた溶液 2 ml 中に室温で 30 時間浸漬し、その滲液を東洋滲紙 No. 50 (10×40 cm) を用い、ブタノール：酢酸：水＝

* Botanical Institute, Faculty of Science, Tokyo University of Education, Tokyo. 東京教育大学理学部植物学教室。

4:1:2 によって、室温で約 20 時間 (展開距離 25 cm にそろえた) 上昇法で一次展開した。スポットの検出は、UV 照射、アンモニア蒸気による UV および日光での呈色によった。各スポットは、各種類の試料をいろいろな組み合わせで同時展開し、その結果を総合し比較検討してその異同を識別した。検出されたスポットの成分は、抽出法、呈色法などに不備な点もあり、どのような物質であるのか確認されていないが、Hegnauer (1962) にまとめられたシダ成分についての報告例や今回の実験法からみて、フロログルシドあるいはフラボノイドが主成分として予想される。しかし、フロログルシドはイノデ属に成分として含まれていないことが知られており (原田, 1951, 1952, 稲垣, 久田, 野呂, 1961), イノデ属に近縁のヤブソテツ属での報告例 (岸本, 1956) などを参照して、ここで検出された成分は主としてフラボノイドと推測される。

結果と考察 検出されたすべてのスポットを比較検討して、8つのスポットを識別した。それらの特徴を Table 1 に示す。特にスポット No. 3, 4, 5, 8 は明確に検出でき、いくつかの雑種の両親種判定に有効な成分と思われる。一方 1 と 7 はほとんどの種類から検出され、2 と 6 は呈色が弱くてその有無はやや確実性に乏しく、これらの成分は判定の基準として重視されなかった。

Table 2 は 13 種 2 変種について得られた結果をまとめたものである。各種とも産地による違いは認められなかった。成分の違いを基に種名を配列してあるが、*P. fibrillosopaleaceum*, *P. tagawanum*, *P. otomasui* など、形態的にかなり異なる種類で同じような結果が得られており、この成分分布がこれらのイノデ類の類縁性を反映して

Table 1. Components obtained from the paperchromatogram patterns in *P. polyblepharum* complex.

Spot No.	UV	UV (NH)	NH	Rf.
1	faint blue	bluish green		0.85-0.65
2		faint yellow green		0.70-0.60
3		blue		0.65-0.55
4		yellow, yellow green	yellow	0.65-0.50
5	blue	green	yellow	0.60-0.50
6	faint blue	pale green		0.55-0.40
7	pale green	yellow green		0.40-0.20
8		reddish brown		0.30-0.10

Extracted with 2 ml of 1% metanolic 1N HCl for 30 hours, from 0.1 g of powdered pinnule. One-way ascending solvent system, n-butanol/acetic acid/water (4:1:2 v/v), Tôyô No. 50 filter paper. Developed 25 cm at room temperature.

いるとは思われない。むしろ、これらが非常に近縁なものだけに、ここで検出された8つの成分が、ほとんどすべての種に含まれている可能性が考えられる。しかし、かなり粗い実験であるにしても、1試料につき10~30回の展開結果が相当の再現性をもってこのような種による違いを示したことから、あるいは各成分の量的な相違にせよ、少くともいくつかの種間において、雑種の両親種判定の一助としての有効性が認められる。

Table 3は26雑種について得られた結果をまとめたものである。検出されたスポットが少ないために多くの雑種が似たような成分分布を示しているが、一般に推定両親の成分を合わせ持つ傾向が見られる。個々についてみれば、推定両親の片方あるいは双方に検出されるスポットが、常に雑種で検出されるわけではなく、いろいろな現われ方をしている。しかし、推定両親の双方にないスポットが雑種に現われた例はなく、雑種特有の新しいスポットも検出されなかった。

いくつかの雑種において、形態面からあるていどの見当をつけた上でのことになるが、このペーパークロマト法が両親種の判定に役立つと思われる例が見られる。例えば、

Table 2. Distribution of the components
in normal species and varieties.

Species	Spot No.	1	2	3	4	5	6	7	8
A	<i>P. ohmurae</i>	+	±	+	-	+	-	+	+
B	<i>P. brawnii</i>	+	+	+	-	+	+	-	+
C	<i>P. polyblepharum</i>	+	+	+	-	+	+	+	-
D	<i>P. polyblepharum</i> var. <i>scabiosum</i>	+	±	±	-	+	±	±	-
E	<i>P. makinoi</i>	+	-	+	-	+	±	±	-
F	<i>P. ovatopaleaceum</i>	+	-	+	-	+	-	+	-
G	<i>P. ovatopaleaceum</i> var. <i>coraiense</i>	±	+	+	-	+	-	±	-
H	<i>P. retrosopaleaceum</i>	+	+	-	-	+	±	+	+
I	<i>P. pseudomakinoi</i>	+	-	+	+	±	+	+	-
J	<i>P. longifrons</i>	+	-	-	+	-	-	+	+
K	<i>P. fibrillosopaleaceum</i>	+	+	-	+	-	+	+	-
L	<i>P. tagawanum</i>	+	±	-	+	-	+	+	-
M	<i>P. igaense</i>	+	±	-	+	-	+	+	-
N	<i>P. otomasui</i>	+	-	-	+	-	+	+	-
O	<i>P. microchramys</i>	+	+	-	-	-	-	+	+

+ : present, - : absent, ± : absent in several chromatograms

P. ovatopaleaceum, *P. ovatopaleaceum* var. *coraiense*, *P. retrosopaleaceum* の 3 種が関係した雑種では、生育地での観察でも、その片親がこれら 3 種のいずれかに判定しにくいことが多い。実際にこれらが関係した雑種として *P. × amboversum*, *P. × inadae*, *P. × okanum*, *P. ×shintashiroi*, *P. × takaosanense* などは、それぞれ 2 通りの組み合わせが推定されているが、その区別が困難なため、1 つの雑種名で発表されている。このような場合、特定のスポットに注目すると、その区別がうまくできそうな例がいくつかみられる。Fig. 1 に *P. × okanum* の例を示したが、この雑種は *P. retrosopaleaceum* × *P. tagawanum* と *P. ovatopaleaceum* × *P. tagawanum* の 2 型が推定されている。今回 2 個体を調べた結果、試料 I (タイプ株より採集) は前者の型、試料 II は後者の型と推定された。これはスポット 8 が片親にあると、どの場合でも必ず雑種に現われており、また呈色の点でも他とははっきり区別できる点に注目して推定された。スポット 5 も 8 と同じように注目できるが、この *P. × okanum* の例にもみられるように、片親が *P. tagawanum* と推定される雑種からは例外的に全く検出されなかった。Fig. 2 は、*P. fibrillosopaleaceum*, *P. longifrons*, *P. polyblepharum* とこの 3 種間の雑種を比較したものであるが、これらも形態的に判定の難しいもので、このペーパークロマト法が使えるような例の 1 つである。

以上の結果から、さらに厳密な実験方法でのより詳細な検討が必要であるが、イノ

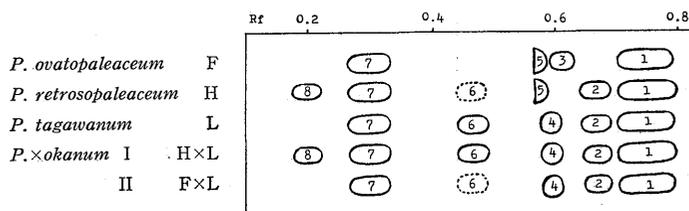


Fig. 1. Paper chromatogram patterns in *P. × okanum* and the putative parents.

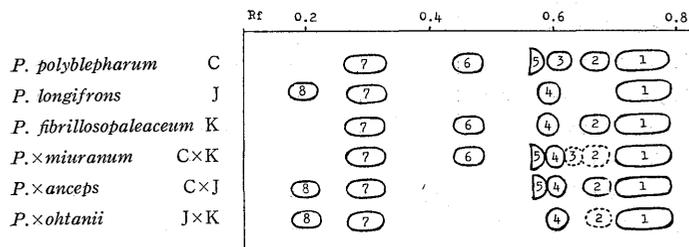


Fig. 2. Paper chromatogram patterns in *P. polyblepharum* and allied taxa.

Table 3. Distribution of the components in hybrids and their putative parents.

Hybrids	Putative parents and the crossing	Spot No.							
		1	2	3	4	5	6	7	8
<i>P. hakonense</i>	(I × J)	+	-	+	+	+	+	+	+
	I	+	-	+	+	±	+	+	-
	J	+	-	-	+	-	-	+	+
<i>P. utsumii</i>	(H × I)	±	-	+	+	+	±	+	+
	H	+	+	-	-	+	±	+	+
	I	+	-	+	+	±	+	+	-
<i>P. takaosanense</i>	(J × F, G)	±	-	+	±	±	-	±	+
	F	+	-	+	-	+	-	+	-
	G	±	+	+	-	+	-	±	-
	J	+	-	-	+	-	-	+	+
<i>P. ongataense</i>	(F × I)	+	-	+	±	+	+	+	-
	F	+	-	+	-	+	-	+	-
	I	+	-	+	+	±	+	+	-
<i>P. miuranum</i>	(C × K)	+	±	±	+	+	+	+	-
	C	+	+	+	-	+	+	+	-
	K	+	+	-	+	-	+	+	-
<i>P. amboversum</i>	(F × G, H)	+	+	+	-	+	±	+	+
	F	+	-	+	-	+	-	+	-
	G	±	+	+	-	+	-	±	-
	H	+	+	-	-	+	±	+	+
<i>P. titibuense</i>	(B × G)	+	+	+	-	+	±	±	+
	B	+	+	+	-	+	+	-	+
	G	±	+	+	-	+	-	±	-
<i>P. microlepis</i>	(E × H)	+	-	+	-	+	-	-	±
	E	+	-	+	-	+	±	±	-
	H	+	+	-	-	+	±	+	+
<i>P. kunioi</i>	(B × E)	-	-	+	-	+	-	±	±
	B	+	+	+	-	+	+	-	+
	E	+	-	+	-	+	±	±	-

Table 3. (continued)

<i>P. kasayamense</i>	(B×C)	- - + - + - ± ±
	B	+ + + - + + - +
	C	+ + + - + + + -
<i>P. iidanum</i>	(E×J)	+ - + - + - - +
	E	+ - + - + ± ± -
	J	+ - - + - - + +
<i>P. namegatae</i>	(E×I)	+ - + - + + + -
	E	+ - + - + ± ± -
	I	+ - + + ± + + -
<i>P. kurokawae</i>	(E×F)	+ - + - + - + -
	E	+ - + - + ± ± -
	F	+ - + - + - + -
<i>P. jitaroi</i>	(C×I)	- - + - + - + -
	C	+ + + - + + + -
	I	+ - + + ± + + -
<i>P.shintashiroid</i>	(O×G, H)	± ± + - ± ± - ±
	G	± + + - + - ± -
	H	+ + - - + ± + +
	O	+ + - - - - + +
<i>P. inadae</i>	(C×F, H)	± + - + + ± + ±
	C	+ + + - + + + -
	F	+ - + - + - + -
	H	+ + - - + ± + +
<i>P. anceps</i>	(C×J)	+ + - + + ± + +
	C	+ + + - + + + -
	J	+ - - + - - + +
<i>P. hokurikuense</i>	(H×J)	- + - ± - - - +
	H	+ + - - + ± + +
	J	+ - - + - - + +
<i>P. ohtanii</i>	(J×K)	± ± - + - - + +
	J	+ - - + - - + +
	K	+ + - + - + + -

Table 3. (continued)

<i>P. okanum</i>	(L×F, H)	+ ± - + - ± + ±
	F	+ - + - + - + -
	H	+ + - - + ± + +
	L	+ ± - + - + + -
<i>P. mashikoi</i>	(C×L)	+ + - + - - + -
	C	+ + + - + + + -
	L	+ ± - + - + + -
<i>P. izuense</i>	(E×L)	+ ± - + - + + -
	E	+ - + - + ± ± -
	L	+ ± - + - + + -
<i>P. kiyozumianum</i>	(I×L)	+ - - + - + + -
	I	+ - + + ± + + -
	L	+ ± - + - + + -
<i>P. hitoyoshiense</i>	(I×N)	+ - - + - ± + -
	I	+ - + + ± + + -
	N	+ - - + - + + -
<i>P. suginoi</i>	(L×N)	- - - + - + + -
	L	+ ± - + - + + -
	N	+ - - + - + + -
<i>P. kumamontanum</i>	(C×N)	- - - + - - + -
	C	+ + + - + + + -
	N	+ - - + - + + -

デ類の雑種両親種推定の裏づけとして、このような成分面からの追求の有効性が認められた。終りに臨み、日頃から御指導いただいている東京教育大学名誉教授伊藤洋先生に深謝します。

引用文献

- Daigobo, S. 1967. Journ. Jap. Bot. 42: 207-210. Harada, T. 1951. J. Pharm. Soc. Japan. 71: 506-507. ibid. 1952. 72: 153-154. Hegnauer, R. 1962. Chemotaxonomie der Pflanzen I: 220-292. Inagaki, I., S. Hisada & Y. Noro, 1961. J. Pharm. Soc. Japan, 81: 287-290. Kishimoto, Y. 1956. J. Pharm. Soc. Japan, 76: 246-253. Pharm. Bull. (Tokyo), 4: 24-28.

- Kurata, S. 1964. Sc. Rep. Yokosuka City Mus. No. 10: 17-41. *ibid.* 1969. No. 15: 44-48. Mitui, K. 1968. Sc. Rep. T.K.D. Sect. B. 13: 285-333. Scora, R.W. & W.A. Wagner, 1964. Amer. Fern. Journ. 54: 105-113. Simura, Y. 1964. Bull. Education Faculty Sizuoka Univ. Nat. Sci. ser. No. 21: 80-98. *ibid.* 1970. No. 21: 29-44. Smith, D.M. & D.A. Levin, 1963. Amer. Journ. Bot. 50: 952-958.

Summary

For the determination of the interrelationship among the hybrid and its presumed parents, the Japanese *P. polyblepharum* complex was examined by the paper chromatography. Eight different spots were recognized in the chromatogram patterns. They were numbered according to the order of their Rf values, and are listed in Table 1. Table 2 shows the results obtained from 13 species and 2 varieties including the putative parents of hybrids and their allied species. Table 3 shows the results obtained from the chromatogram patterns in 26 hybrids, and those of their putative parents are also shown for comparison. Although these results may not always give positive evidence of actual hybridization, these chromatographical data, coupled with morphological evidence, supported their postulated parentages.

○ヒハツモドキについて (山崎 敬) Takasi YAMAZAKI: On a cultivated *Piper* in Ryukyu

ヒハツモドキは八重山諸島に栽培され、香料として使われ、石垣にからんで野生状態となっている。華南にある *P. hancei* Maxim. の学名があてられているが、真の *P. hancei* は、葉の中脈は殆んど側脈をださず 3 行脈状で、花穂は細長い。ヒハツモドキは中脈からも太い側脈をだし羽状脈状で、花穂は太く短い。これは正宗氏が報告したように、東南アジアに広く分布し、栽培もされる *P. retrofractum* Vahl である。ただ正宗氏は *P. hancei* も異名に含めているが賛成できない。これは華南、トシキン の野生種で、香料として利用されることもない。Maximowicz が *P. hancei* を報告したさいに、ヒハツモドキも混同したのが混乱のもとである。

Piper retrofractum Vahl, Enum. 1: 314 (1804), C.DC. Prod. 16-1: 378 (1869), Masamune in Sci. Rep. Kanazawa Univ. 2: 111 (1953) pro parte, excl. syn. *P. hancei*.—*Piper officinarum* C.DC. Prodr. 16: 356 (1869)—*Piper hancei* Maxim. in Bull. Acad. Sci. St-Petersb. 31: 94 (1886) pro parte specimen Ryukyu tantum, excl. China. Hatusima, Fl. Ryukyu p. 217 (1971).

Distr. Malaysia, Indo-China and Philippines. Naturalized in Ryukyu.