

短報

Minoru N. TAMURA^a, Hiroshi OKADA^b, Yoshiyuki ICHINOHE^c, Masa-aki TAKE^c, Fa-Ding PU^d and Michio TAMURA^e: **Relationship of *Kingdonia* Based on Karyomorphology and Alkaloid Components**

核形態とアルカロイドよりみたキングドニアの類縁 (田村 実^a, 岡田 博^b, 一戸良行^c, 武 正暁^c, 付 発鼎^a, 田村道夫^e)

Kingdonia, a monotypic genus of *K. uniflora*, was described and classified in the Ranunculaceae by Balfour and Smith (1914). This genus has open dichotomous venation and even number of leaf-traces from one gap as *Circaeaster*. This type of venation is quite unique among angiosperms, and Diels (1932) emphasized a close affinity between both genera. But *Circaeaster* is distinguished from *Kingdonia* and ranunculaceous genera by many characters (Tamura 1963). While many of the characteristics found in *Kingdonia* are common to the Ranunculaceae, and it is better to be included in the Ranunculaceae.

In the Ranunculaceae, *Kingdonia* was usually put near *Anemone* (Janchen 1949, Tamura 1967, Kosuge, Pu and Tamura 1989). But Zhang (1982) suggested that *Kingdonia* was related to *Coptis* by short chromosomes with the basic number 9 and double petiolar traces. To decide the systematic position of the genus in the family, karyological characters are the most important, but the karyotype of *Kingdonia*, besides chromosome number, was not reported yet. The purpose of this article is to give a more solid base for the phylogenetical consideration of *Kingdonia* by means of karyology with support by the data of alkaloid components.

Plant materials for karyological observation were collected from two localities of northern Sechuan, China, in 1986: Gong-ga-ling, on the conifer forest floor, ca. 3,300 m, on 17th May; and Huang-long-si, on the floor of mixed forest of conifer and deciduous trees, ca. 3,300 m, on 18th May. The root-tips were

excised at the native habitats, and prepared according to the same method adopted for other Chinese plants (Tamura 1993). The description of chromosomes at interphase and mitotic prophase followed Tanaka (1977), and those at metaphase Levan et al. (1964).

Plant materials for detection of alkaloids were collected at the same time with those for karyology in 1986; and also on 3rd July, 1990, from Huang-long-si. Materials of *Coptis japonica*, *Semiaquilegia adoxoides* and *Thalictrum minus* were collected from Pref. Kanagawa: Mt. Yabitu in 1976, Mt. Kinugasa in 1976 and Mt. Hakone in 1976, respectively; and those of *Aquilegia flabellata* were collected from cultivation in Funahashi.

Voucher specimens of *Kingdonia uniflora* (M. Tamura, F.-D. Pu and M. N. Tamura nos. 1059, 1064, and M. Tamura et al. no. 400) are preserved in KYO.

Chromosome number was counted to be $2n=18$. The chromosome complement at mitotic metaphase is composed of four pairs of relatively long chromosomes, 3.0–2.8 μm in length, three medium-sized pairs, 2.5–2.3 μm , and two short pairs, 1.9–1.8 μm . The long chromosomes are all metacentric. One pair of them (4th) has a secondary constriction at the proximal region of the short arms. One of the three medium-sized pairs (5th) is metacentric, another one (6th) submetacentric, and the remaining one (7th) subtelocentric. One of the two short pairs (8th) is metacentric, while the other (9th) is subtelocentric (Fig. 1C, D, Fig. 2).

Interphase nuclei are categorized into the simple

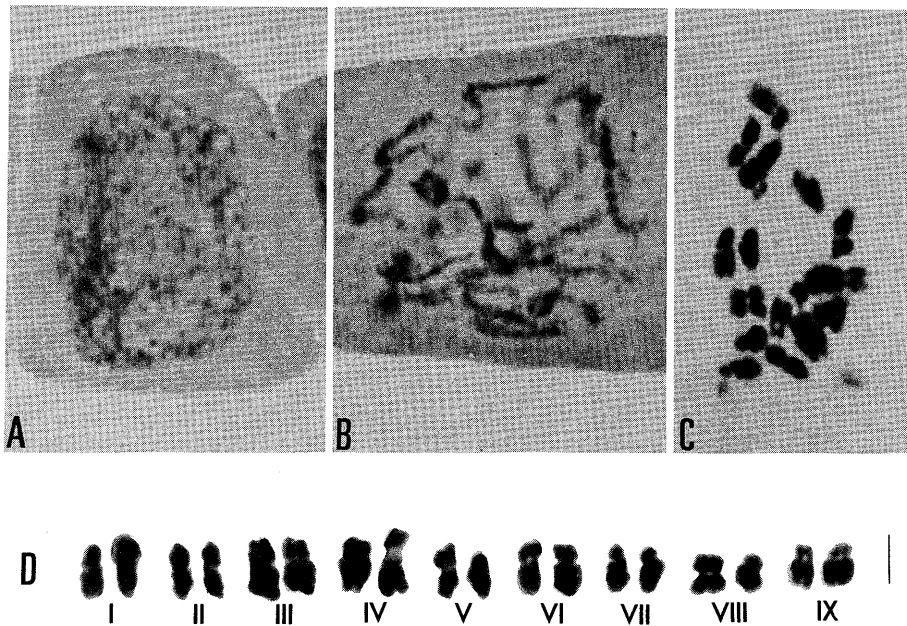


Fig. 1. Microphotographs of interphase nucleus and somatic chromosomes of *Kingdonia uniflora*. A, interphase nucleus. $\times 2,000$. B, prophase chromosomes. $\times 2,000$. C, metaphase chromosomes. $\times 2,000$. D, chromosome complement. Bar = $2 \mu\text{m}$.

chromocenter type, and mitotic prophase chromosomes show interstitial type (Fig. 1A, B).

Collected total plants for alkaloid detection in 1986 were brought back in dried condition. The air-dried materials, 946 mg, were extracted with ethanol. The ethanolic solution was evaporated under reduced pressure, and a residue of 96 mg was obtained. From the residue, alkaloids such as berberine and magnoflorine were not detected by means of TLC.

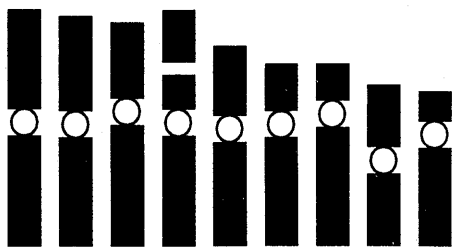


Fig. 2. Karyogram showing somatic karyotype of *Kingdonia uniflora*.

Collected total plants in 1990 were preserved in ethanol for four months. From the ethanol solution, an amorphous material of 386 mg was obtained. The amorphous material was inactive for detection tests of alkaloids with Meyer reagent and Mandalin reagent. For isolation of alkaloids from the amorphous material the high-performance liquid chromatography (HPLC) was used, but berberine and magnoflorine were not isolated. Berberine and magnoflorine were easily detected from the above mentioned amounts of materials of *Aquilegia*, *Coptis*, *Semiaquilegia* and *Thalictrum*.

The somatic chromosome number of *Kingdonia uniflora* is 18 as previously reported by Zhang (1982). This number is the same with that of *Coptis*, and the basic number seems to be 9 as in *Coptis* and *Xanthorrhiza*. Zhang (1982) suggested a relationship between *Kingdonia* and *Coptis*, but the following results of the present studies do not support his idea.

The metaphase chromosome length of *Kingdonia* ranges from 3.0 μm to 1.8 μm , whose largest chromosome is larger than that of any other genera with so-called T-type chromosomes. The chromosome length of *Coptis japonica* ranges from 2.5 μm to 2 μm and that of *C. ramosa* from 2 μm to 1.5 μm (Okada and Tamura 1979). The chromosomes of other T-type genera are further smaller than those of *Coptis*, e.g. in *Thalictrum filamentosum* the largest is 1.5 μm long and the smallest 1 μm (Okada and Tamura 1979). Accordingly the chromosomes of *Kingdonia* are slightly larger than those of T-type group including *Coptis*. On the other hand, the chromosomes of *Kingdonia* are usually smaller than those of genera with so-called R-type chromosomes. But in *Ranunculus*, the typical genus with R-type chromosomes, *R. nipponicus* var. *major* has comparatively small chromosomes, i.e. the largest is 3 μm long and the smallest 1 μm long (Okada and Tamura 1979). These values are not different from those of *Kingdonia*.

In *Kingdonia* interphase nuclei show simple chromocenter type and prophase chromosomes show interstitial type, as in the species of R-type group, like *Aconitum*, *Anemone*, *Cimicifuga*, *Helleborus* and *Ranunculus*, including *R. nipponicus*. While in the T-type group like *Aquilegia*, *Coptis*, *Hydrastis*, *Semiaquilegia*, *Thalictrum* and *Xanthorhiza*, interphase nuclei show prochromosome type and prophase chromosomes show proximal type. Thus *Kingdonia* is different from the T-type group including *Coptis* and rather similar to the R-type group in heterochromatin condensation and stainability in the interphase nuclei and prophase chromosomes.

Among the R-type group, the karyotype of *Kingdonia* with $x=9$ is unique, but it may be comparable with the karyotypes of *Anemone* and *Clematis* with $x=8$. For example, the chromosome pairs I, II, III, V, VI, VII and IX of *Kingdonia* resemble a, b, c, d, e, f and g of *Anemone hupehensis* var. *japonica* (Kurita 1957, as *Anemone nipponica*). A satellite chromo-

some pair of *Kingdonia* IV seems to be correspond to h of *Anemone*, and the surplus pair VIII of *Kingdonia* to be derived by the duplication of one of metacentric or submetacentric chromosome pairs, I, II or V.

It is well-known fact that the genera with T-type chromosomes, such as *Aquilegia*, *Coptis*, *Semiaquilegia*, *Thalictrum*, etc., richly contain benzyloquinoline alkaloids, while genera with R-type chromosomes do not or hardly contain them. In the present study benzyloquinoline alkaloids could not be detected from *Kingdonia* by two different ways. The amounts of material were enough to detect the alkaloids from species of the T-type genera. This fact also supports that *Kingdonia* is not included in the T-type group but in the R-type group.

Kingdonia has small, knob-like petals which resemble those of *Pulsatilla*. The carpels produce one hanging ovule from the middle of the upper margin of well-developed adaxial wall (Kosuge, Pu and Tamura 1989). These flower structures suggest the relation of *Kingdonia* to the group of *Anemone*, not to the group of *Ranunculus*.

The present studies support the taxonomic treatment that *Kingdonia* is classified in the tribe Anemoneae of subfamily Ranunculoideae in the Ranunculaceae.

References

- Balfour I. B. and Smith W. W. 1914. *Kingdonia*. In Diagnoses specierum novarum in herbario Horti Regii Botanici Edinburgensis cognitarum. Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh 8: 173-212.
- Diels L. 1932. *Circaeaster* eine hochgradig reduzierte Ranunculacee. Beih. Bot. Centralbl. 49, Ergänzungsband: 55-60.
- Janchen E. 1949. Die systematische Gliederung der Ranunculaceen und Berberidaceen. Österr. Akad. Wiss., Math.-Naturwiss. Kl., Denkschr. 108: 1-82.
- Kosuge K., Pu F.-D. and Tamura M. 1989. Floral morphology and relationships of *Kingdonia*. Acta Phytotax. Geobot. 40: 61-67.
- Kurita M. 1957. Chromosome studies in Ranunculaceae 1. Karyotypes of the subtribe Anemoninae. Rep. Biol. Inst. Ehime Univ. 1: 1-10.
- Levan A., Fredga K. and Sandberg A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52:

201–220.

- Okada H. and Tamura M. 1979. Karyomorphology and relationship of the Ranunculaceae. J. Jap. Bot. 54: 65–77.
- Tamura M. 1963. Morphology, ecology and phylogeny of the Ranunculaceae 1. Sci. Rep. Osaka Univ. 11: 115–126.
- Tamura M. 1967. Morphology, ecology and phylogeny of the Ranunculaceae 7. Sci. Rep. Osaka Univ. 16-2: 21–43.
- Tamura M. N. 1993. Biosystematic studies on the genus *Polygonatum* (Liliaceae) III. Morphology of staminal filaments and karyology of eleven Eurasian species. Bot. Jahrb. Syst. 115: 1–26.
- Tanaka R. 1977. Recent karyotype studies. In K. Ogawa, K. Kurozumi, J. Koike and S. Sato, Plant Cytology, Asaka Book Co., Tokyo, 293–326 (in Japanese).
- Zhang Z.-Y. 1982. Chromosome observation of three ranunculaceous genera in relation to their systematic position. Acta Phytotax. Sin. 20: 402–409.

キングドニア (*Kingdonia uniflora* Balf.f. et W. Smith) は中国西南部の亜高山針葉樹林の林床に生育する多年草で、普通、キンポウゲ科に分類されている。キルカエアステル (*Circaea agrestis* Maxim.) と同様、開放二分岐脈系と偶数の葉跡をもつが、このような脈系は被子植物では例外的であり、このために両属はしばしば近い類縁関係にあるとみなされ、キルカエアステル科やキングドニア科に分類されることもある。しかし、キルカエアステルはキングドニアやキンポウゲ科とは全く異なった発生学的特徴をもち、それらと近い関係にあるとは思えない。キングドニアの類縁をより明らかにするため、核形態を観察し、アルカロイドの検出をおこなったのでその結果を報告する。

キングドニアの染色体数は $2n = 18$ で、Zhang (1982) の報告の通りである。キンポウゲ科の染色体は、トリカブト属、イチリンソウ属、ボタンヅル属、キンポウゲ属などにみられるような長くてうねった R 型と、オウレン属、オダマキ属、シロカネソウ属、カラマツソウ属などにみられるような真直、または単純に曲がった短い T 型とに区別される。しかし、報告例が増えるにつれ、長さによるタイプ分けは困難になってきた。しかし、T 型染色体の中間期核ではいくつかの特に強く染まった球状の部分が認められ、前期染色体は動原体側が強く染まり末端部はよく染まらない。R 型染色体の中間期核では全体が染まって球状部を認め難く、前期染色体も全体がほぼ一様

に染まる。タガラシやバイカモの中期染色体の長さは R 型と T 型の中間であるが、染色性は明らかに R 型である。キングドニアの中期染色体の長さは最大 $3.0 \mu\text{m}$ 、最小 $1.8 \mu\text{m}$ 、長さでいえばタガラシやバイカモと同様、両型の中間であるが、染色性は明らかに R 型である。核型も R 型属のイチリンソウ属やボタンヅル属の $2n = 16$ の種に似ている。例えば、キングドニアの核型を、栗田 (1957) により報告されたキブネギクの核型と比べると、前者の染色体 I, II, III, V, VI, VII, IX はそれぞれキブネギクの a, b, c, d, e, f, g に似ているし、付随体染色体 IV は h に相当すると思われる。キングドニアの染色体 VIII は I, II, V のうちのどれかの重複によると思われる。

キンポウゲ科の T 型染色体をもつ属は多量のベンジルイソキノリン型アルカロイドを蓄積することはよく知られた事実である。しかし、R 型染色体をもつ属ではそのようなことはない。したがって、キングドニアの分類学上の位置の決定にはこの型のアルカロイドを含むかどうかを調べることは重要である。1986年に採集したキングドニアの乾燥材料 946mg をエタノールで抽出し、抽出物中にアルカロイドが存在するかどうかを薄層クロマトグラフィーを用いて確認しようとしたが成功しなかった。1990年に採集し、4カ月間エタノールに貯蔵した材料より 386mg の非晶性物質が得られたが、この物質はアルカロイドに対する沈殿試薬や呈色試薬に反応せず、また、この物質から高速液体クロマトグラフィーを用いてアルカロイドの分離を試みたがこれまた成功しなかった。同時に、同じ方法でオダマキ、オウレン、ヒメウス、アキカラマツについてアルカロイドの検出を試みたが、これらの量は、ベルベリンやマグノフロリンを分離、検出するのに十分であった。この点からしてもキングドニアは R 型染色体をもつ群にぞくするといえる。そして R 型属のなかでは、胚珠、果実、花弁などの形態からみてイチリンソウ属に近いと推定できる。

(^a大阪市立大学理学部、^b大阪大学理学部、^c日本大学理工学部、^d中国科学院成都生物学研究所、^e近畿大学生物理工学部)

(^aDepartment of Biology, Osaka City University, Sugimoto, Osaka, 558 JAPAN; ^bDepartment of Biology, Osaka University, Toyonaka, 560 JAPAN; ^cDepartment of Chemistry, Nihon University, Funahashi, 274 JAPAN; ^dChengdu Institute of

Biology, Academia Sinica, Chengdu, Sichuan, CHINA; ^eLaboratory of Botany, Kinki University, Uchita, Wakayama, 649-64 JAPAN)

新刊

□小野幹雄：孤島の生物たち—ガラパゴスと小笠原 239 pp. 1994. 岩波新書. ¥650.

海洋島小笠原とガラパゴスを永年研究してきた著者が、そこで起こっている生物の盛衰を物語る。文章はなめらかで読みやすい。本土から遠くへたった離島への非海岸性陸上植物の到達は、風か鳥によるものが多いわけだが、きわめて偶然性が高いのでフロラのバランスが悪く、生態的空白に進出することで適応放散がおこることが、多くの事例で示されている。とくに小笠原での研究や観察に基づく話は、われわれも身近なこととして頭に入りやすい。ペルーの砂漠の中のお花畑ロマスを孤島と位置づけ、その消長を地球規模のエルニーニョ現象と関連させたスケールの大きな話もある。今後の研究に期待したい。植物だけでなく動物の話もたくさん取り込んで、孤島の生物相ばかりでなく、生物多様性の重要性や自然保護の必要性を、一般の人達にも理解しやすく物語っている。なお絶滅危惧種という単語は、著者の発案になるということを知った。(金井弘夫)

□神奈川県植物誌調査会：初山泰一先生論文集～卒寿記念～ 293pp. 1994. 同会. ¥3,000 (送料とも)。

本年卒寿をむかえられた初山泰一氏の記念出版である。初山氏は太平洋戦争の前後に資源科学研究所に勤務されたほかは、いわゆる研究機関には所属せず、自由な立場で独自の研鑽を進められた。とは言っても殻にとじこもるわけではなく、東京大学や都立大学の依頼に応じて標本整理を支援され、誰にもへだてなくその蘊蓄を披露された。これは神奈川県立博物館でも同様だったときく。あのナフタリン臭い標本室へ、しかも暖房なしの冬場でも、ほとんど一日中とじこもって仕事をしてもらったのを記憶している。はじめの4頁に履歴、採集地が簡単に記録されている。続く6ページは思い出話して、二子の谷のこと、サクラバハンノキのこと、資源研のことなどが独特の語りくちの

まま写しとられている。著作目録には単著87点、共著6点、分担執筆6点がリストされ、氏の発表した植物名のリストが続く。以降が論文集の本体で、作品のほとんどが採録されている。ただ原著の組版の関係で、頁づけが途中で反転しており、やむをえないことだがまごつされる。表舞台に出ようとしない碩学の作品を、一挙に目にすることができるようにして下さった編集委員の労を多とする。入手希望者は神奈川県立博物館の新しい住所である次記へ。250 小田原氏入生田 499. 神奈川県立生命の星・地球博物館。田中徳久 (Tel 0465-21-1515 Fax 0465-23-8846)。

(金井弘夫)

□松沢篤郎：渡良瀬川支流山塊の高等植物——類似植物の見分け方ハンドブック 178 pp. 自費出版. 1994. ¥2,000 (送料とも)。

著者はさきにこの地域の植物誌を刊行しているが、野外で類似植物を同定するためにその中から561種類を抜き出し、12.5×18.5 cm と小型にし、記述もその目的以外は省略してある。本文は科別にまとめ、植物和名のみを見出しの下に、判別点を太字で示している。産地は詳しく、記録年月日と共に記されていて、植物分布の変遷をたどるための配慮がなされているのだが、普通な植物では省略されているのは惜しい。同定を目的とする著書によく出てくる検索表はない。スマレ属については所産のすべての種について、一覧表形式の同定表がつけられている。一覧表式同定表は作るのが大変だが、今後他の植物群についても是非作ってほしい。最初に誰かがつくれば、それを基に追随する人が出るにちがいない。本書にはモクレン、イチヤクソウ、キキョウ、オオバコなどの科はまだ収録されていないので、続編を期待したい。そのときには、科の同定もできるような工夫をしていただきたい。初心者にとって、「どの頁を開くか」ということが最も悩む点だからである。入手希望者は著者へ直接連絡されたい。住所は(374 館林市 電話) である。(金井弘夫)