

公益財団法人トヨタ財団 研究助成プログラム「社会の新たな価値の創出をめざして」
2015年度助成対象プロジェクト「キーストーン種となる菌寄生植物の探索とその共生菌の
解明—豊かな森の地下生態系の保護方策の確立を目指して」実施報告書

神戸大学理学研究科 生物学専攻
生物多様性講座 生態・種分化分野
特命講師 末次健司

地上の生態系は、土壌中で芽生え、やがて朽ちて土壌にかえる植物によって支えられている。この地下における生物間の関わりの中で最も重要なものが、ほぼすべての植物が関係を結ぶ菌根菌との関係性である。植物は一般的に、土壌中の菌類に水や無機塩類の吸収を助けてもらう報酬に、光合成で得た糖を菌類に与えるという形で菌根共生を結んでいる。

一方で、菌寄生植物は、菌根菌から炭素を含む栄養素をすべて奪っており、その菌類との寄生関係が成立しない限り生育することができないことが知られている (Biartrondo *et al.* 2002 Nature)。このような、菌寄生植物の菌根菌は、炭素を菌寄生植物に与えると同時に、別の光合成する植物に炭素を依存していることが明らかになりつつある (Biartrondo *et al.* 2002 Nature)。つまり、菌従属栄養植物は、森の生態系に入り込み、寄生する存在であるといえる。このため、生態系に余裕があり、資源の余剰分を菌従属栄養植物が使っても問題のない安定した森林でなければ、菌従属栄養植物が生育することはできない。つまり、菌従属栄養植物が存在するという事実は、肉眼では見えない菌糸のネットワークやそれらと連結している木々を含めた豊かな生態系の広がりを示している。様々な植物や菌類と関係を結ぶ菌寄生植物は、共生ネットワークの中核を占める存在であると考えられるため、逆をいえば、菌寄生植物を保護する環境を形成することは、安定した原生林の維持、再生につながる可能性が高い。

上述の背景のもと、本プロジェクトでは、日本に生育する菌寄生植物の分布の調査を行うとともに、菌寄生植物とその近縁種群について、①光合成活性の測定、②菌根菌の遺伝解析による共生菌の同定、③菌寄生植物と菌根菌間の安定同位体を用いた物質の移動の追跡を行った。これらの成果は、菌寄生植物の起源や進化といった学術的な大きな問いに答えることだけでなく、絶滅危惧種がほとんどである菌寄生植物の移植の適地診断、組織培養による増殖、播種増殖手法の開発を、効率よく行う手助けになると考えられる。以下に成果を、(1) 未知の菌寄生植物の分布調査、(2) 緑色植物における菌寄生性の検討、(3) メインの調査地である屋久島などの鹿児島県の島々における保護活動、の3つに分けて詳述する。

(1) これまで発見されていなかった未知の種の発見.

これまで中部地方では記録がなかったラン科植物のタンザワサカネラン *Neottia inagakii* Yagame, Katsuy. et Yukawa を中部地方の山梨県で初めて発見した(Fig.1). タンザワサカネランは、サカネラン属 *Neottia* Guett.の多年生の菌従属栄養植物である. タンザワサカネランは、神奈川県丹沢山系の3か所で採取された標本をもとに、2008年に記載された(Yagame et al. 2008). 当初、本種は丹沢固有種であると考えられていたものの、その後、1984年に茨城県常陸太田市で標本が採取されていたことが判明し、関東地方北部にも分布することが明らかになった(内山 2010). また、山下ら(2013)は福島県西郷村および宮城県仙台市荒巻青葉山、宮城県蔵王町での自生地も報告した. 山下ら(2013)は、1) この植物が小型の菌従属栄養植物で、目立たないこと、2) 比較的最近記載されたため一般にはまだあまり認知されておらず、ヒメノヤガラやサカネランなど他の腐生ランと間違って認識されること(勝山・稲垣 2007, 内山 2010)から、今後、より多くの生育地が報告され、より広い分布が明らかになる可能性を指摘していた.

このタンザワサカネランはツクシサカネランに似るものの、1) タンザワサカネランの花はツクシサカネランの花よりもやや小さい、2) タンザワサカネランの上唇は開花時に平開しないが、ツクシサカネランでは平開する、3) タンザワサカネランの葯は直立し花糸は無いが、ツクシサカネランでは直立せず短い花糸がある、4) タンザワサカネランの蕊柱は円柱状だが、ツクシサカネランでは円錐状である、といった点で区別できる(Yagame et al. 2008). 私たちは現在、菌従属栄養植物の分布調査を行っており、その過程において、山梨県南巨摩郡身延町でサカネラン属の不明種が発見されたとの情報をいただいた. この標本を確認したところ、上記のタンザワサカネランの特徴を満たしており、当該標本がタンザワサカネランであると確認した.

一方で、これまでタンザワサカネランの識別形質の一つとして、ツクシサカネランの唇弁上における裂片が常に2裂であるのに対し、タンザワサカネランの唇弁上における裂片は2裂または3裂であり花によって形状に変化がある点が挙げられていたが(Yagame et al. 2008)、本個体群のタンザワサカネランの唇弁上における裂片は、ほぼすべて2裂であったことから、この点のみに頼った同定は難しいことが示唆された. また、タンザワサカネランは、近縁のツクシサカネランと異なり花被片が開かないとされてきた. この点について山下ら(2013)は、福島県及び宮城県仙台市で観察されたタンザワサカネランでは、花被片の間に直径約1 mmの開口部が見られ、そこからわずかに蕊柱と黄色っぽい花粉塊がのぞいていたと述べている. 今回採取された個体の花被片の間の開口部は、福島県及び宮城県仙台市で観察されたタンザワサカネランのそれよりもさらに大きく、長径は約3 mmを超えるものも見られた. これらの特徴と、ラン科では一般に花の開き具合と自殖への依存度

が相関すると知られていること (e.g. Suetsugu 2017) や、タンザワサカネランを含む菌従属栄養性のサカネラン属では自動自家受粉能を持つ種が多いこと (末次 未発表データ) を併せて考えると、タンザワサカネランの自殖への依存度は、個体群によって異なっている可能性があることが明らかとなった。

前述の通り、タンザワサカネランは、これまで神奈川県、茨城県、福島県および宮城県でのみ発見されており、山梨県南巨摩郡での発見は中部地方の新産地かつ分布の西限となる。なお、今回発見されたタンザワサカネランの生育環境は、標高約 1100 m のヤマボウシとリョウブを中心とした落葉広葉樹林内の、やや暗く適度な湿度のある林床で、サワシバ、オオヤマザクラ、イタヤカエデ、イヌブナ、ウリハダカエデ、アワブキ、ホオノキ、ブナ、ウラジロノキ、コウヤボウキ等が生育していた。また個体数は少なく、今回の調査では 10 個体程度の発見となった。

タンザワサカネランは小型であり、また光合成を行わないことから花期と果実期のわずかな期間しか地上に姿を現すことがない。このため、山下ら (2013) が指摘した通り、今後、より多くのタンザワサカネランが発見される可能性があることから近県の植物研究者に注意を喚起したい。また前述の通り、今回発見されたタンザワサカネランの生育個体数は非常に少なく、菌従属栄養性という特性もあり、環境の変化には脆弱であると考えられる。環境省レッドリストでは絶滅危惧のおそれのある種として、絶滅危惧 IB 類 (EN) に掲載されている。今後継続的に調査観察を行い、生育地一帯を視野に入れた保全活動が必要であると考えられる。

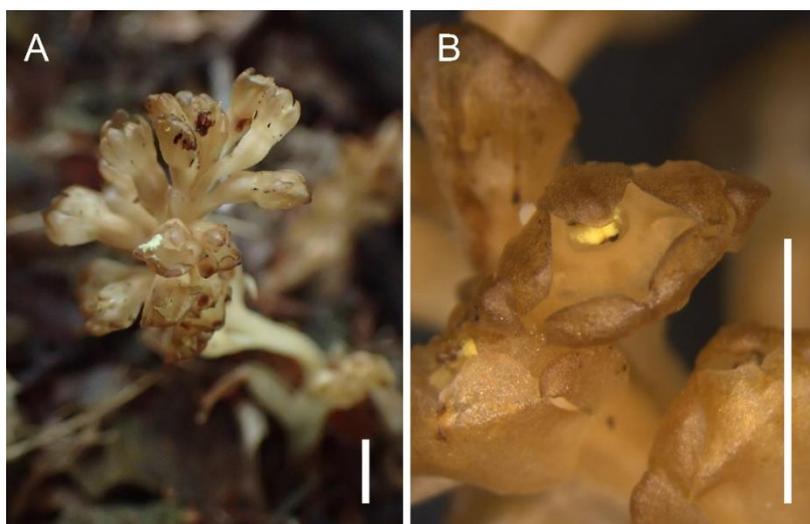


Figure1. 中部地方初記録となる山梨県で初めて発見されたタンザワサカネラン

次に、分布の北限となる新潟県においてラン科のエンシュウムヨウラン *Lecanorchis suginoana* (Tuyama) Seriz. を発見した。エンシュウムヨウランは、ムヨウラン属 *Lecanorchis*

Blume の多年生菌従属栄養植物である。本種は従来、静岡県と愛知県に局所分布すると考えられていたが、近年、関東地方では茨城県、埼玉県、東京都、東海地方では静岡県、愛知県、近畿地方では大阪府、奈良県、京都府、滋賀県、四国地方では高知県、九州地方では宮崎県、さらに、台湾と報告例が相次いでいる（末次ら 2017）。私たちは現在、ムヨウラン属の分布調査を行っており、新潟県新発田市でエンシュウムヨウラン自生地を発見できた(Fig.2)。エンシュウムヨウランの記載以降に公表された文献における新潟県のムヨウラン属の分布記録を見るとホクリクムヨウラン *Lecanorchis hokurikuensis* Masam.については記録があるものの、エンシュウムヨウランについての記載はなく、新産地である。なお、これまで報告されているエンシュウムヨウランの北限は埼玉県水戸市で、今回新たに発見された新潟県新発田市の自生地は、本種の北限地となる。

エンシュウムヨウランは、ムヨウラン *Lecanorchis japonica* Blume にやや似るが、1) 高さが約 20 cm 以下と小型であること、2) 唇弁左右の側裂片はやや丸みを帯びていること、3) 唇弁周縁部に鋸歯がほとんど無いこと、4) 蕊柱上部の翼がより尖っていること、5) 唇弁の毛に突起物が分枝して枝毛状になっていること、6) 花色が帯黄褐色であること等で区別される。また大きさがよく似るウスキムヨウラン *Lecanorchis kiusiana* Tuyama とよく混同されるが、1) 唇弁左右の小裂片は丸みを帯びていること、2) 唇弁周縁部に鋸歯がほとんど無いこと、3) 唇弁の毛の量がより少ないこと、4) 唇弁の毛の突起物がおよそ上半分までに枝毛状に分枝すること、5) 唇弁の毛色が黄色であること、6) 蕊柱先端部の左右両縁が尖ってやや突出し3裂していないこと等で容易に区別できる (Suetsugu 2012)。

本種は当初、ムヨウラン *Lecanorchis japonica* Blume の変種 *Lecanorchis japonica* Blume var. *suginoana* Tuyama として記載された。またウスキムヨウラン *Lecanorchis kiusiana* Tuyama の変種 *Lecanorchis kiusiana* Tuyama var. *suginoana* (Tuyama) T. Hashim.とする意見もあり (Hashimoto 1990)、種ステイタスの在り方について意見が分かれていた。しかし、芹沢 (2005) は蕊柱の先端部に注目し、ウスキムヨウランとは形態が異なること、また中間的な個体が見つかっていないこと等からエンシュウムヨウランは、ウスキムヨウランとは異なる種として区別するのが妥当であるとし、独立種 *Lecanorchis suginoana* (Tuyama) Seriz.として扱った。私たちもその意見を支持し、本報告でも本種を独立種とした。

本報告を含め、近年多くの都府県でエンシュウムヨウランが報告されている現状を考えると、エンシュウムヨウランはムヨウランやホクリクムヨウラン、そしてウスキムヨウランと混同されている可能性がある。今後調査が進めば新たな生育地が確認される可能性があるものの、現在のところエンシュウムヨウランは全国的に分布が限られていることから、今後、新潟県における個体群動態調査と生育環境の保全が必要であると考えられる。



Figure 2. 分布の北限となる新潟県で発見されたエンシュウムヨウラン.

次に、ラン科のタブガワムヨウラン *Lecanorchis tabugawaensis* Suetsugu & Fukunaga 沖縄から初めて見出した (Fig.3) . タブガワムヨウランは、ムヨウラン属 *Lecanorchis* Blume の多年生の菌従属栄養植物である. 本種は、ムロトムヨウラン *Lecanorchis taiwaniana* S. S. Ying emend. Suetsugu, T.C. Hsu, S. Sawa, & Fukunaga に似るが、1) ずい柱がほとんど湾曲しない、2) 唇弁の幅が狭い、3) 唇弁の先端部がほぼ全縁である、4) 唇弁の離生部内部が無毛である、5) ずい柱の腹部が無毛である、6) ずい柱の全長のうち唇弁と癒合する部分の長さが2分の1以下である、等の点からムロトムヨウランと区別が可能である (Suetsugu & Fukunaga 2016) .

私たちは現在、ムヨウラン属の現地調査や標本調査に基づく分布調査や分類学的な再検討を行っており (福永他 2015, 末次・福永 2016, 2017, 末次他 2017, Suetsugu *et al.* 2016, 2017a,b, Suetsugu & Fukunaga 2016) , その過程で、沖縄県国頭村の常緑広葉樹林林床にて複数のムヨウラン属の開花個体を発見した. なお、本報告の証拠標本として、大阪市立自然史博物館の標本庫に開花個体のエタノール液浸標本を納めた. また生育地に関する情報を附録に記したが、乱獲による影響を考慮し必要最小限にとどめた. これまで、タブガワムヨウランは鹿児島県屋久島と長崎県福江島においてのみ報告されており (Suetsugu & Fukunaga 2016, 末次・福永 2016) , 本報告が3例目の分布の報告となる. 今回発見された個体については、花色が紫色を帯びていることや蒴果が斜上につくこと等から、当初はムロトムヨウランと思われた. しかし、採集した標本について上記の形質を再検討した結果、前述のタブガワムヨウランの分類形質に合致しており、今回発見した個体がタブガワムヨウランであることが確認できた. 同じく花色が紫色を帯び、近縁種であるクロムヨウラン

やムロトムヨウランと過去に同定されているものの中にも、タブガワムヨウランに分類すべきものが含まれている可能性がある。

本種が生育していた森林は、優占種がスダジイで、ニッケイ、イジュ、オニヘゴ、ヤッコソウなどから構成されていた。今回発見されたタブガワムヨウランの生育個体数は3個体と極めて少なく、また菌従属栄養性という特性からも、環境の変化には脆弱であると考えられる。タブガワムヨウランは、現時点では環境省の全国版レッドリストの指定は受けていないものの（環境省 2015）、これまでに発見されている個体数を鑑みると、レッドデータブック対象種の範疇に十分含まれるものと思われる。今後継続的に調査観察を行い、生育地一帯を視野に入れた保全活動が望まれる。



Figure 3. 分布の南限となる沖縄県で発見されたタブガワムヨウラン

さらに、共同研究者である杉本嵩臣氏（九州大学生物資源環境科学府大学院生）と、石垣島の野底岳と於茂登岳の周辺で、未知の菌従属栄養植物を発見した。この植物は、植物体全体が赤紫色で、植物体の高さは3cm程度、直径2~3mmの花をつける。末次が、この植物の形態的特徴を精査した結果、この植物は、ホンゴウソウ科の植物であるものの、単性花（雄花と雌花が別々である）をつけ、花びらの大きさが等しく、雄花の先端に糸状の突起がある点で、日本に分布するホンゴウソウ科のいずれの種とも異なる特徴を持つことが明らかとなった。そこで発見場所の地名から「ノソコソウ」と命名した(Fig.4)。また海外の種を含め検討を進めたところ、ソロモン諸島とインドネシアのパプア州でのみ分布が確認されている「*Sciaphila corniculata*」であることが明らかとなった。これらの島々から遠く離れた日本で、この植物が発見されたことは驚くべきことである。



Figure 4. 日本初記録となるノソコソウ

(2) 緑色植物の菌への依存度の解明

本研究計画のもう一つの主要テーマが、今まで明らかになっていなかった菌寄生植物の探索を行うことである。葉緑素を持ちながらも、特定の菌に養分を依存する種が存在する場合には、その菌の存在する特定の環境が不可欠であるという新しい保全の指針を提示できるからである。また、植物において自身のアイデンティティともいえる光合成をどのように失っていったのかを明らかにすることは植物学上の大きな疑問であり、この問いに答えるという点においても重要な知見を得られると考えられる。私たちは、光合成をやめるより先に菌への寄生性が進化した、つまり“植物が菌に頼る度合いを強めていく過程で光合成を行う必要が徐々になくなった”という仮説を立て、これを検証することにした。

この仮説が正しければ、光合成を行うにもかかわらず菌への依存も認められる植物は、光合成活性が通常の植物より低いと考えられる。光合成活性の測定は、コストが極めて低いことから、光合成を行う菌寄生植物の近縁種群（光合成を行いながら菌にも依存する植物の候補）についてのスクリーニングが可能と考えられる。また上記のスクリーニングで菌に寄生することが示唆される種については、安定同位体分析を行うことで、さらに詳しく物質の移動の検討を行った。炭素化合物を含む全ての養分を菌類から奪い取る菌寄生植物では、光合成を行う植物より菌類の炭素・窒素安定同位体比が高いため、これに伴い植物自

身も周囲の植物より高い炭素・窒素安定同位体比を示す。したがって、自ら光合成を行うだけではなく、菌からも炭素化合物を得ている植物は、周辺の植物と共生する菌類との中間的な炭素・窒素安定同位体比を示すはずである。

本項目では、上記の手順に従い検討を行った植物の中から、マヤランに関する成果を紹介する。マヤランは、普通葉をもたないものの果実は冬に向けて成熟すると共に、緑を濃くすることが分かっている。従属栄養性を持たない一般の植物に目を向けてみると、葉以外の組織、例えば、茎、苞、果実、根などで、光合成の大部分を賄っている植物も多数存在する。そこで、マヤランが菌寄生植物なのかを解明することを試みた。

色素含量

マヤランの外果皮ではどの程度クロロフィルが蓄積するのかを他の植物種と比較した (Table 1)。マヤランの外果皮にクロロフィルが蓄積することが分かったが、他の種の葉と比べるとその含量は非常に低く、また近縁種で光合成だけで生活できるシュンランの外果皮と比べても低いことが分かった。またマヤランやシュンランの外果皮では、クロロフィル a/b 比も葉と比べて低かった。シュンランやナギランの葉ではシロイヌナズナの葉と比較するとクロロフィル a に対してカロテノイドの量が多くなっているが、シュンランの外果皮ではシロイヌナズナの葉と同程度であった。一方で、マヤランの果実ではカロテノイド含量が高くなっていた。このことから、マヤランの果実ではアンテナクロロフィルやカロテノイドの量が多くなっていることが分かった。また、マヤランの果柄部も緑化しており、その色素組成は果実と似ていた。

Table 1. Pigment composition

Plant materials		Chl a	Chl b	Car	Chl a/b	Chl a/Car
		nmol g ⁻¹ FW	nmol g ⁻¹ FW	µg g ⁻¹ FW	mol/mol	nmol/µg
A. thaliana	leaf	2331.6±49.0	751.3±16.9	472.7±25.0	3.10±0.00	4.94±0.27
C. nagifolium	leaf	1973.6±280.2	636.2±87.3	487.9±69.0	3.10±0.02	4.04±0.01
C. goeringii	leaf	2069.4±308.3	618.4±105.5	505.9±107.8	3.36±0.09	4.14±0.37
	exocarp	290.8±29.8	134.4±21.6	59.6±9.2	2.18±0.13	4.91±0.28
C. macrorrhizon	peduncle	50.0±10.2	30.7±5.8	18.2±5.5	1.63±0.06	2.83±0.39
	exocarp	84.9±20.3	47.1±10.9	27.2±9.2	1.80±0.02	3.23±0.42

Values are means ± SD (n = 3). Chl, chlorophyll; Car, carotenoids; FW, fresh weight.

PAM 解析

マヤランの果実における最大量子収率 (Fv/Fm) をイメージング PAM によって解析した (Fig. 5)。マヤランの果実の Fv/Fm は、1 個体における組織間では大きな差はなかったが、個体差は非常に大きかった。特に、No. 2 は No. 1 や No. 3 とクロロフィル含量は同程度にもかかわらず Fm が低いことから、強い蛍光の消光が起こっていると考えられる。最も活性が高かった No. 3 でも、Fv/Fm は 0.5 程度と、一般的な健康な光合成器官(0.8 程度)と比べると

低い値だった。

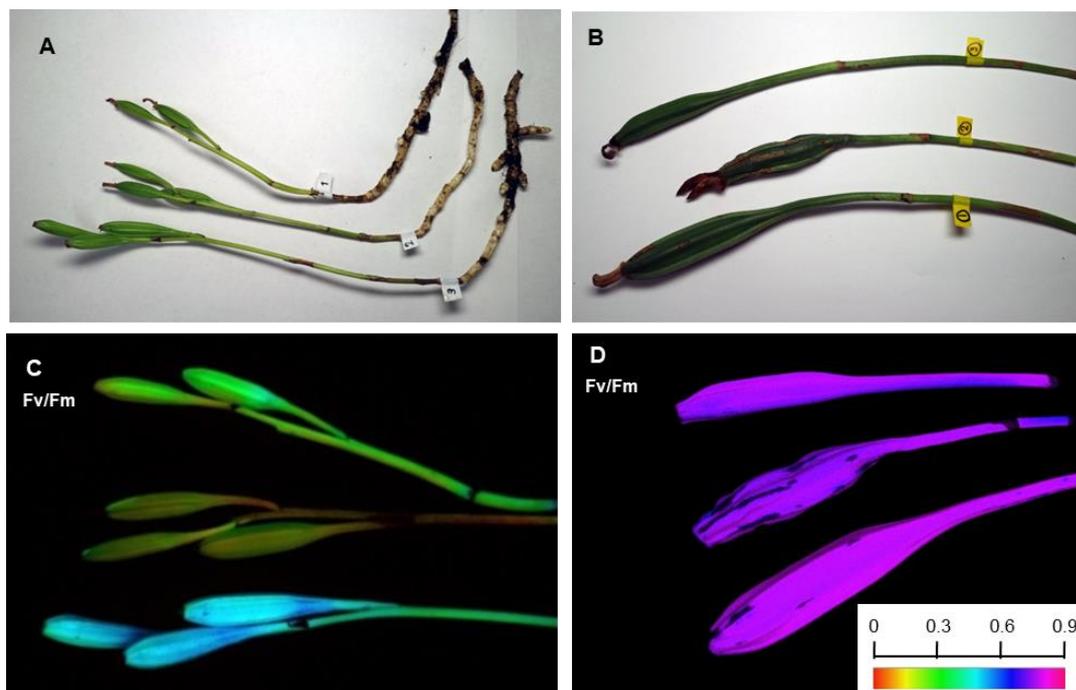


Figure 5. マヤランのクロロフィル蛍光

次に、マヤランの光合成電子伝達系の性質を調べるために、PAMによる光合成パラメータの解析を行った (Table 2)。光化学系IIの最大量子収率 (Fv/Fm) を比較したところ、シュンラン、ナギランともに、葉はシロイヌナズナの葉と同様に高い値を示した。また、シロイヌナズナの鞘表面 (外果皮) もシュンランの外果皮も葉と大差のない活性を示したのに対し、マヤランの外果皮は明らかに低い Fv/Fm を示し、それは果柄でも同様であった。

Table 2. Maximum quantum yield of photosystem II (Fv/Fm)

	A. thaliana		C. nagiforium	C. goeringii		C. macrorhizon	
	leaf	exocarp	leaf	leaf	exocarp	peduncle	exocarp
Fv/Fm	0.79±0.01	0.77±0.01	0.77±0.00	0.80±0.01	0.76±0.01	0.47±0.01	0.56±0.01

さらに、光照射下における光合成パラメータを解析した。まず、マヤランの果柄における光合成パラメータをシュンランやナギラン、シロイヌナズナの葉と比較した。シュンランとナギランの葉では、シロイヌナズナの葉と異なり、照射する光強度が弱い段階から実行量子収率 (YII) が大きく低下した。特にナギランの葉ではその傾向が顕著であり、マヤランの果柄でも同様の結果が得られた。Open な PSII の割合を示す qP がシロイヌナズナの葉と比べるでは低く、特にナギランの葉やマヤランの果柄では 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ photon 程度で最低レベルまで低下した。一方で、葉のサンプルでは、Fv'/Fm' は qP ほど大きくは低下しなかった。マヤランの果柄ではそもそも Fv/Fm が低いため、Fv'/Fm' も低い値を取った。これらのランのサンプルでは、定常光が強くなるにつれて YII が極端に減少したの

に逆相関する形で、YNPQの割合が高くなった。このことから、光合成に使われなかった光エネルギーは熱などの安全な形で消去されていると思われる。一方、マヤランの果柄では、YNPQも他のランの葉と同様高いが、それに加えYNOが特に弱光条件で高くなっている。マヤランの果柄ではPSIIの量子収率が低くなっていることから、PSIIの障害により電子伝達に使われなかった光エネルギーが蛍光などで散逸している結果であると考えられる。量子収率と光合成光量子束密度を掛け合わせた値(YII・PAR)は光合成電子伝達速度に関係するが、ランのサンプルではどれも弱い定常光ですでに飽和状態近くにあることから、これらはすべて弱光型の光合成電子伝達系を備えていると言える。

最後に、マヤランの外果皮における光合成活性をシュンランやシロイヌナズナの外果皮と比較した (Fig. 6) 。シロイヌナズナの外果皮は葉に近いレベルの量子収率を示した。それに対し、マヤランやシュンランの外果皮ではYIIが低い一方、YNPQは高くなっており、葉や果柄での解析 (Fig. 7) と類似した結果であった。ただし、シロイヌナズナの外果皮との比較において、マヤランの外果皮ではFv/Fm'が低くなっている一方、シュンランの外果皮ではqPが主に低下していたことから、YIIを下げる要因はこれら二種で異なっていることが分かった。また、YNOのプロファイルもマヤランとシュンランでは異なっていた。

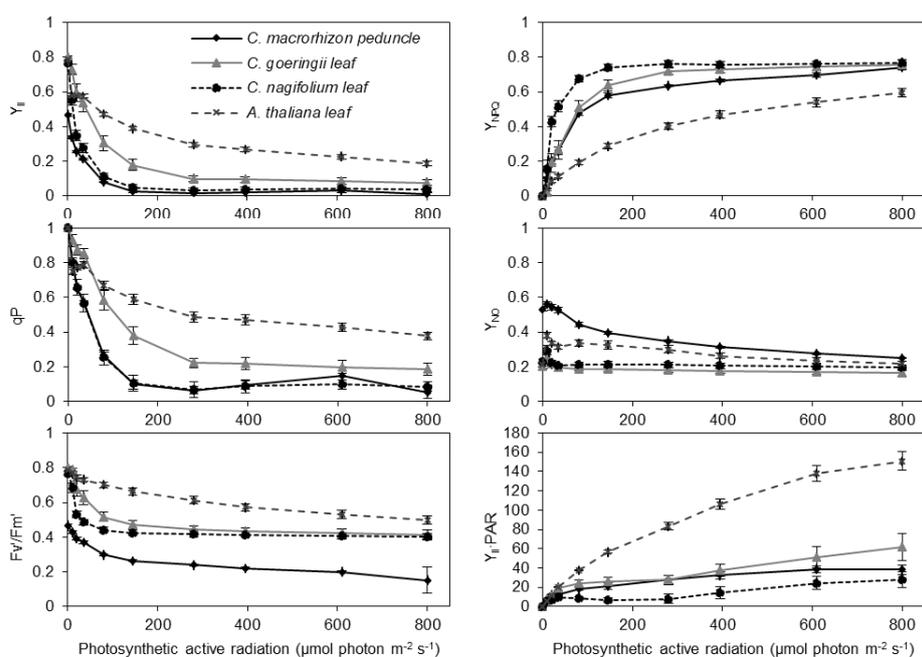


Figure 6. 光照射下における光合成パラメーター解析

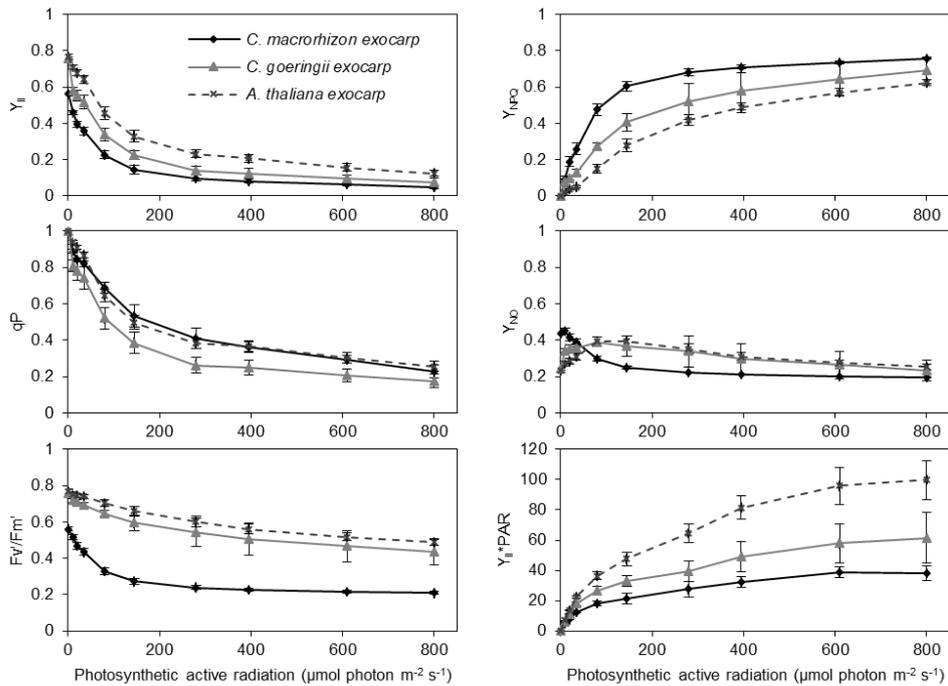


Figure 7. 光照射下における光合成パラメーター解析 2

NPQの解消

マヤランとシュスランはともに、シロイヌナズナと比べ高い非光化学的消光の割合 (YNPQ) を示したため、それがどのようなプロセスによるものかを NPQ の解消過程を解析ことで調べた (Fig. 8)。シュンランやナギランの葉では、シロイヌナズナの葉と比べ、YNPQ が定常光 ($400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ photon) 照射下で非常に高かったが、定常光消灯後にシロイヌナズナと同様のレベルまで素早く解消した (Fig. 8A)。シュンランやナギランの葉では 70% の Y(NPQ) が定常光消灯後 1 分以内に解消したことから、これらの葉における NPQ の大部分はキサントフィルサイクルなどの非常に速い成分によるものだと考えられる。また、これらの葉では定常光照射で低下した Fv/Fm は消灯後 30 分で 90% 程度まで回復していることから、光障害はほとんど起きていないことが分かる。一方で、マヤランの外果皮はシュンランやナギランの葉と同程度の YNPQ を定常光照射時に示したが、定常光消灯後 1 分以内では 50% 程度までにしか解消せず、その後長い時間をかけてゆっくり解消していった。また、マヤランの外果皮における Fv/Fm は定常光照射により強い障害を受け、消灯後の回復もゆっくりだった。このことから、マヤランの外果皮では光障害による NPQ の上昇がシュンランやナギランの葉と比べるとより大きな割合を占めることが分かった。

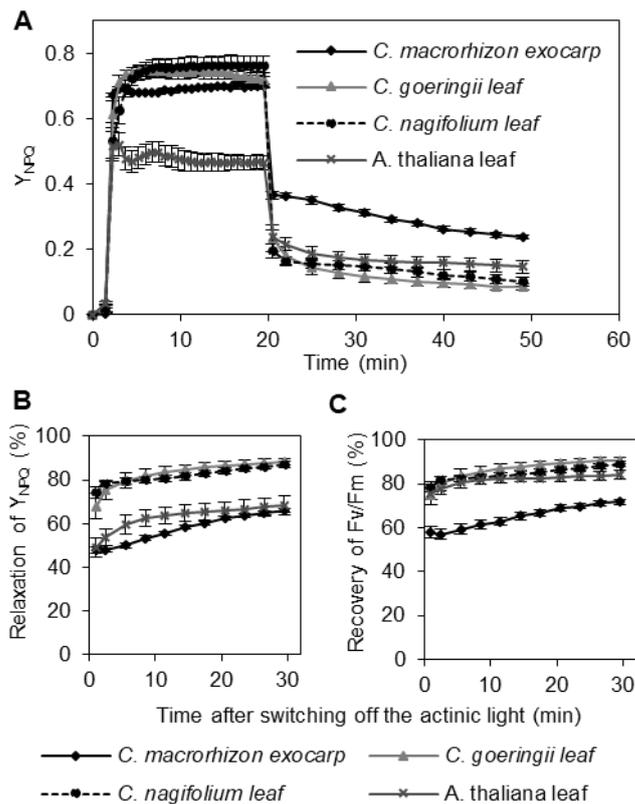


Figure 8. マヤランとその近縁種のシュンラン, シロイヌナズナにおける NPQ の比較

光化学系 I と II のエネルギー分配

光化学系 I と II の複合体の状態を, 単離チラコイド膜を用いた低温クロロフィル蛍光測定を行い調べた(Fig. 9). シロイヌナズナの葉のチラコイド膜では, 682.6 nm をピークとした PSII からの蛍光に対し, 729.4 nm をピークとした光化学系 I からの蛍光の方が高く出たが, マヤランの外果皮のチラコイド膜画分では, 光化学系 I からの蛍光は非常に低くなっていた. また, 光化学系 II からの蛍光のピークは 680.2 nm と, シロイヌナズナと比べ若干短波長シフトしていた一方, 光化学系 I からの蛍光は 734.6 nm をピークとし, 長波長側にシフトしていた. シュンランやナギランの葉においても光化学系 I からの蛍光が光化学系 II からのものよりも低くなっていた. また, 光化学系 II のピーク (シュンラン, 682.4 nm; ナギラン 681.6 nm) はシロイヌナズナとほぼ同様であったが, 光化学系 I からの蛍光のピーク (シュンラン, 734.4.4 nm; ナギラン 737.2 nm) はマヤランと同様, シロイヌナズナより長波長側に観察された.

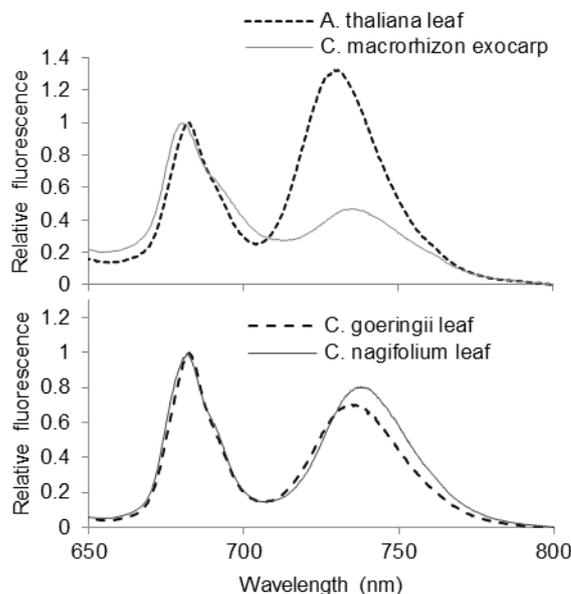


Figure 9. マヤランとその近縁種のシュンラン, シロイヌナズナにおける光化学系 I と II のエネルギー分配

光化学系 II の電子伝達活性

マヤランの外果皮はシュンランの外果皮と比べても低い F_v/F_m を示したことから、光化学系 II に問題があると考えられる。そこで、光化学系 II における電子伝達の速度を明らかにするために、定常光照射直後のクロロフィル蛍光の変化を測定した (Fig. 10)。定常光照射後のクロロフィル蛍光誘導を測定したところ、シロイヌナズナの葉と比較し、マヤランの外果皮では定常光をつけて即クロロフィル蛍光が発せられたことから、光化学系 II の光化学反応が遅滞していることが分かった。このような結果はシュンランやナギランの葉では見られなかった。そこで、光化学系 II の電子需要側での電子伝達速度を、 Q_A の再酸化による蛍光消失を指標に調べたところ、すべてのサンプルでほとんど差が無いことが分かった。このことから、マヤランの外果皮における光化学系 II の阻害は、光化学反応の阻害が主原因である可能性が考えられる。

野外での光合成活性

野外で自生しているマヤランとシュンランを 5 分間暗所処理し F_v/F_m を計測したところ、シュンランの葉では高い活性が見られたが、マヤランの外果皮では非常に低い値しか得られなかった (Fig. 11)。また、暗所処理を 15 分に伸ばしてもその値は変わらなかった。このことから、寒冷期の野外においては、マヤランの外果皮ではほとんど光化学反応が行われていないと言える。

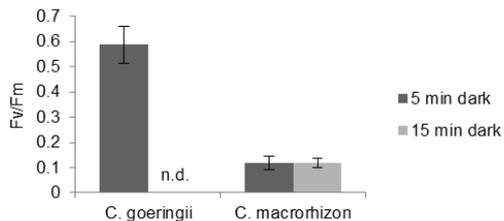
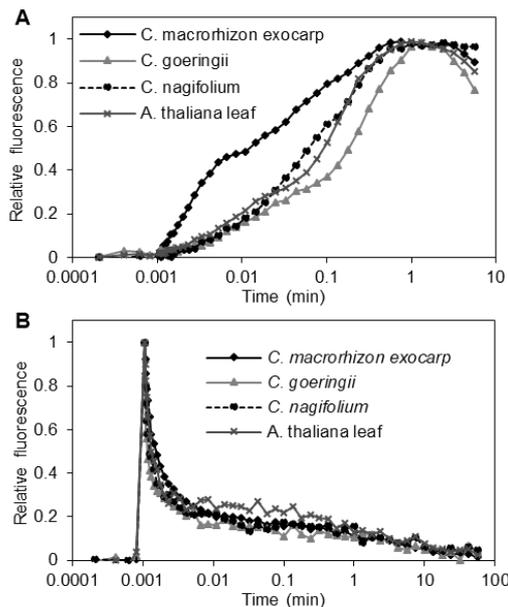


Figure 7.

光化学系 II の電子伝達活性 (Figure10; 左) と野外での光合成活性 (Figure 11; 右)

安定同位体解析

前述の通り、ツツジ科やラン科の菌従属栄養植物の餌となるキノコの炭素安定同位体は、独立栄養植物のそれよりもはるかに高い値をとる。このため、当然ながらキノコを餌とする菌従属栄養植物もそれに応じた値になるということである。また、光合成もしながら菌に寄生するような種では、独立栄養植物と菌従属栄養植物との中間的な ^{13}C の値を示す。マヤランは、新芽の時期はほとんどクロロフィルを持たないにもかかわらず、果実の時期には濃い緑となる。両者の炭素安定同位体比を検討したところ、新芽の個体で $10.3 \pm 0.3\text{‰}$ 、果実の個体で $7.6 \pm 0.2\text{‰}$ 、周辺の独立栄養植物よりも、高い値を示した (Fig. 12)。しかし、マヤラン果実は新芽の時期よりも低い炭素安定同位体比を示すことから、果実の時期にはある程度独立栄養的な生活をしていることが明らかになった。新芽の個体は菌から完全に炭素を得ていると仮定すると、マヤラン果実個体は 25 パーセントくらいの炭素を光合成でまかなっていることが明らかになった。しかも新芽の個体も昨年までの光合成産物を蓄えている可能性もあるため、この値は、過小評価の可能性もある。

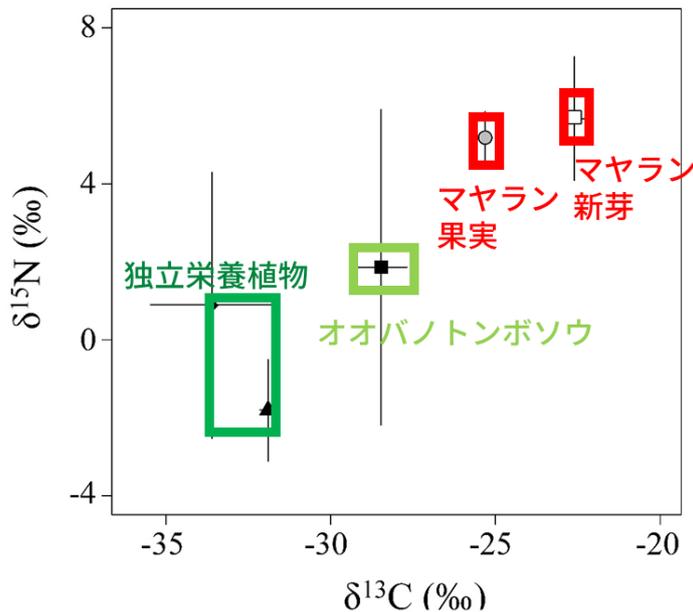


Figure 12. 今回明らかになったマヤラン安定同位体比

上記の結果をまとめると、シュンランやナギランの葉は一般的な植物の葉と同程度の高い F_v/F_m を示すが (Table 2), 弱光条件下での量子収率 Y_{II} はシロイヌナズナの葉と比べ非常に低い値を示し, Y_{II} に PAR をかけた値は弱光下で飽和状態となることが明らかになった (Fig. 6). これは, 弱光型の光合成の特徴であり, 非常に高い YNPQ が見られることから, 光合成に使われなかった余剰光エネルギーのほとんどは熱などの形で捨てられると考えられる. マヤランの果柄や外果皮でも同様の傾向が見られたが (Fig.6, Fig.7), それに加え, F_v/F_m や F_v'/F_m' が極端に低い特徴を持っていた (Table 2). マヤランの緑色組織では YNO が高くなっていたが, 光化学系 II に異常があることで, 反応に使われなかった光エネルギーが蛍光などの形で散逸していると考えられる. シュンランの外果皮では F_v/F_m の大きな低下は見られなかったことから (Table 2), マヤラン特有のことであると考えられる.

ランのサンプルではシロイヌナズナと比較し YNPQ の割合が高かったことから, それがどのような成分によるものかを調べたところ, シュンランやナギランの葉では, 暗所で瞬時に解消する成分がその大部分を占めていた (Fig. 8A,B) ことから, おもにキサントフィルサイクルに代表されるような早い NPQ 成分によって非光化学的消光が行われていると考えられる. この結果は, マヤランやナギランではクロロフィルに対するカロテノイドの割合が比較的高いことと矛盾しない (Table 1). これらのランの葉では F_v/F_m の低下は強く起こっていないことから (Fig. 8C), 早い非光化学的消光が光化学系 II を光阻害から守っていると考えられる. それに対し, マヤランの外果皮では回復の遅い NPQ 成分の割合が高く, 光ストレス後の F_v/F_m の持続的な低下も強く見られたことから, マヤランでは光阻害により非光化学消光が起きていると考えられる. マヤランでは F_v/F_m が低く (Table 2) 光化学系

II の光化学反応に異常が見られ (Fig. 10A) , また YNO の割合も高いことから, 光化学系 II への光阻害が起りやすい状態にあると考えられる.

さらに光化学系複合体の状態を低温におけるクロロフィル蛍光測定で調べたところ, シロイヌナズナの葉のチラコイド膜サンプルと比べ, シュンランやナギランの葉のサンプルでは PSI からの蛍光が低かった. このことから, これらのランでは光化学系 I の量が相対的に少ないか, 光化学系 II から I へのスピルオーバーが少ないことが考えられる. マヤランの外果皮では光化学系 I からの蛍光がさらに低下しており, この傾向がより顕著になっていることから, マヤランにおいては光化学系 II に光を集めるような仕組みになっていると考えられる. また, これらのランのチラコイド膜サンプルでは光化学系 I のピークが長波長側へシフトしていたことから, PSI と LHCI のエネルギー的な結合がシロイヌナズナよりも強いと考えられる.

一方で, マヤランの成熟した外果皮はシュンランほどではないが, クロロフィルを蓄積し, ある程度電子伝達を行う能力があることが分かり, さらに電子需要側における電子伝達速度は健康な葉と同様のレベルを示した (Fig. 10B) . また, 全体的にシュンランやナギランと類似した弱光型の光合成を示したことから, これら近縁種と同様の光合成装置をある程度維持していると考えられる. その一方で, マヤランにおける光化学系 II の光化学反応系は近縁の植物種と比べて収率が悪く, Fv/Fm もシュンランの外果皮と比べても低かった. これらの光合成測定の結果は, マヤランは菌に強く依存しているものの, 光合成でも, ある程度の炭素を賄っている可能性を強く示唆するものである. 実際に, 安定同位体分析を用いた共生菌への依存度解明からも, マヤラン果実個体は少なくとも 25 パーセント程度の炭素を光合成で賄っていることが明らかになった.

(3) メインの調査地である屋久島などの鹿児島県の島々における保護活動

本プロジェクトの調査地のひとつである屋久島は, 2008 年に新種のヤクノヒナホシ, 2015 年に日本発初記録のタブガワヤツシロラン, そして今年に入って新種のヤクシマソウと菌従属栄養植物の新発見が相次いでいる地域である. これらの発見は明らかに, 屋久島の原生林の豊かさを証明している. しかし, 一般的に屋久島の大自然というと, 標高 500 メートルを超える場所でみられる縄文杉などに主な関心が払われ, 低地の照葉樹林とその価値は広く認知されているとはいえないのが現状である. 事実, これらの新種の植物が発見された地域のほとんどが, 国立公園にも世界遺産にも指定されておらず, 森林の伐採が可能な区域となっている. 実際に新種発見地周辺で, スギ植林地の伐採が行われている場所もあり, 乾燥による菌類相の変化といった環境の悪化も懸念されている.

このような条件下で, 私は屋久島の菌従属栄養植物の調査を行っている写真家の山下大明氏と協力し, やはり保護区域に指定されていない鹿児島県熊毛郡屋久島町東部の愛子岳

梡川流域および女川流域の低地照葉樹林で、未知の菌従属栄養性のラン科植物を発見した。特徴としては、茎の高さが 20cm~40cm ほどで、7 月~8 月に 1 本の茎につき約 2cm の白い花を 5 個ほどつける。山下氏から未知の植物発見の知らせを受けた末次は、在野の植物研究者である福永裕一氏と標本を精査した。その結果、この未知の植物は、ラン科ムヨウラン属のムロトムヨウランに近縁であるものの、唇弁やずい柱といった花の内部構造が異なることから、ムロトムヨウランと区別できた。そこで本種を新種として記載し、発見場所の地名を冠して『タブガワムヨウラン *Lecanorchis tabugawaensis*』と命名した。「タブガワ」の名は本種の発見場所で、他にもミドリムヨウラン、アワムヨウラン、ウスキムヨウラン、ヤクシマヒメアリドオシラン、ヤクシマラン、ヒモラン、タイワンアオネカズラ、シシラン等の数々の絶滅危惧植物を育む「梡川（タブガワ）」に因み、発見者の山下氏が命名した。本研究成果は、昨年 11 月 3 日発行の植物分類学の国際誌「Phytokeys」に掲載された (Suetsugu and Fukunaga 2016)。

植物調査が世界でも最も進んでいる日本において、新種の植物が発見されるのは稀有な事例である。一方で、菌寄生植物は光合成を行わず、花期と果実期のわずかな期間しか地上に姿を現さない上、花期が短くサイズも小さいものが多いため、発見が非常に困難だからである。よって植物の戸籍調べが最も進む日本においても、まだまだ新種が発見される可能性がある。南方熊楠も、シロシャクジョウ、ヒナノシャクジョウ、ホンゴウソウといった光合成をやめた植物が生える場所こそ森の聖域であると述べ、その環境の貴さを訴えたが、豊かな森とそこに棲む菌類に支えられた「タブガワムヨウラン」の発見は、屋久島の低地照葉樹林の重要性を改めて示すものである (Fig.13)。

新種ラン発見 屋久島でも

大学講師・地元写真家ら

命名「タブガワムヨウラン」



新種と確認されたタブガワムヨウラン＝昨年7月、山下大明さん撮影

屋久島で新種のランを神戸大の末次健司特命講師(29)と地元の写真家・山下大明さん(61)らが確認し、発見した榊川という地名から「タブガワムヨウラン」と命名した。光合成をせず、菌類に寄生する植物。3日に論文が植物分類学の国際誌に掲載された。

タブガワムヨウランは、樹木の根本周辺にいる菌類から栄養を奪う「菌従属栄養植物」の仲間。7～8月に開花し、長さ数センチほどの花びら6枚のうち5枚が白色、唇の形をした1枚が紫色なのが特徴という。末次さんと屋久島で植物の分布調査をしている山下さんが昨年7月、島東部の愛子岳(1235メートル)のもとに広がる照葉樹林で発見した。すでに知られているムヨウランと見られるが、花びらが違っていたため、末次さんが標本を詳しく分析。その結果、絶滅危惧種のムロトムヨウランに近いが、花びらのほかに雄しべと雌しべが合体した「すい柱」の形状も異なる

新種と判明した。末次さんは県内で植物の調査に取り組んでおり、この3年間に屋久島や三島村の竹島、黒島で確認した新種は5例目となる。

タブガワムヨウランが見つかった場所は、人里近い照葉樹林帯で国立公園に指定されておらず、伐採や開発が可能な地域。40年にわたって屋久島を撮り続けている山下さんは「今後も新種が見つかる可能性がある



タブガワムヨウランを観察する末次さん(左)と山下さん(右)＝今年7月、いずれも屋久島町

鹿兒島 屋久島 薬師 日 享月

2016年(平成28年)11月9日 水曜日

り、低地の照葉樹林はしっかり守る必要がある」と話している。
(屋久島通信員・武田剛)

Figure 13. タブガワムヨウラン発見に関する新聞記事

さらに屋久島では、白谷雲水峡宮之浦線の拡張工事が予定されており、環境変化による菌類や菌寄生植物を含めた生態系の破壊が懸念されている。このため、植物に詳しい手塚賢至氏(屋久島学ソサエティ副会長)と前述の山下大明氏に協力を依頼し、目視観察を行った。観察により、保護の必要がある重要な植物種、位置、個体数を確認・記録した。結果、特筆すべき植物として、環境省のレッドリストの絶滅危惧IA類(最も絶滅の危機が高い種)に分類されるミドリムヨウランの群生地が見つかった。この群生地は、工事計画において2車線化する拡張工事に伴って削り取られる斜面であり、現場周辺には橋脚が建

てられる予定の場所である。屋久島で記載されたのち、宮崎県でしか発見されていないミドリムヨウランの保護のため、工事に関して配慮を促すように要望を出した。そのほか、オニノヤガラ属の種も見いだされた。確認された個体は、外部の形態的な特徴から、ハルザキヤツシロランやタケシマヤツシロランの仲間であると考えられた。ハルザキヤツシロランは本州（伊豆）～九州、琉球列島に分布する腐生の地生ランで、環境省 RDB では絶滅危惧II類に選定されている。また、タケシマヤツシロランは竹島で発見されて平成 25 年に新種記載された種であり、その後、屋久島でも確認されている。

そのほかに、ヤツシロランの仲間では台湾の一部地域でしか確認されていない種が、平成 27 年に屋久島町東部の愛子岳柵川流域と女川流域で発見されて、「タブガワヤツシロラン」という和名をつけられている。タケシマヤツシロランとタブガワヤツシロランは、いずれも知見が極めて新しいため、現況のレッドデータブックには掲載されていない。しかし、希少性の高さからいけば絶滅危惧種と同等に扱うことが妥当と考えられる。さらに本調査地では、ウスキムヨウラン、シロシャクジョウ、ヒナノシャクジョウなどの菌従属栄養植物も発見された。前述の通り、菌従属栄養植物は、森の生態系に取り入り、寄生する存在である。このため生態系に余裕があり、栄養の余剰分を菌従属栄養植物が使っても問題のない、安定した森林でなければ生育できない。発見された菌従属栄養植物は、アーバスキュラー菌根菌（シロシャクジョウ、ヒナノシャクジョウ）、外生菌根菌（ウスキムヨウラン、ミドリムヨウラン）、腐朽菌（オニノヤガラ属の一種）と寄生相手が異なることが遺伝解析によって明らかになった。つまり、これらのすべての菌類に余裕がある証拠であり、肉眼では見えないものの、多種多様な菌糸のネットワークが地下に広がっていることを示している。よって今後も継続的に調査観察を行い、生育地一帯を視野に入れた個体群動態調査を行う必要があると考える。これらの知見をもとに、菌従属栄養植物が集中して生えている場所について建設計画の変更を求めるとともに、どうしても工事を避けることができない箇所についても、「個体が生えている場所のみならず、この間接的な栄養源となる樹種とその近隣にバッファゾーンを設けた区域を残す」といった提言を行っている。

また、こうした問題についてなるべくわかりやすく屋久島の地元の方々に紹介する機会も設けた。具体的には、屋久島でのフィールド調査の日程を屋久島で開催されたシンポジウム「屋久島学ソサエティ第 4 回大会屋久島低地照葉樹林の多様性とその保全—新種発見が相次ぐ菌従属栄養植物が明らかにする世界—」に合わせ、演題「屋久島の豊かな森に支えられた光合成をやめた不思議な植物」にて 2016 年 11 月に講演を行った。こうした活動は、地元住民と研究者がタッグを組んだ研究活動、自然活動の好ましい事例であるとし、地元の新聞でも取り上げられている (Fig.14)。

またこのような閉鎖花による自家受粉のみを行う植物は、他殖によって遺伝的な変異を獲得することができないため、環境変動や病原菌との競合、有害遺伝子の蓄積等のデメリットが想定される。生物種の長期的な生残において遺伝的な多様性が重要であることは、様々な証拠からも明白である。その一方で、遺伝的多様性を完全に消失した生物種がどの程度の時間スケールで生存できるか、あるいは、例外的に遺伝的多様性の維持が相対的に重要ではない環境や分類群が存在するか等の問いに対する答えは少ない。貴社の助成金で採取したクロシマヤツシロランを材料に、今後遺伝解析によって完全閉花受粉植物の遺伝的多様性、分岐年代やその持続性の解明に挑戦していく予定である (Fig. 15).



Figure 15. クロシマヤツシロランを用いた研究の今後の展望

(4) 最後に

最初に説明した通り、菌寄生植物の存在は、肉眼では見えない菌糸のネットワークを含めた豊かな地下生態系が広がっていることを示している。このため、菌寄生植物を保護する環境を形成することは、安定した原生林の維持、再生につながる可能性が高い。よって、菌寄生植物の保護は、少なくとも生態学的には重要であるといえる。しかしながら、実際に保全を行う場合には、「科学的で効率の良い保全策の策定」だけでは不十分である。私たちは、このような方法をとれば保全できるというところまでは提案できるものの、保全すべきかどうかは、地元の中での合意形成の問題が多分に含まれる。事実、自然保護が声高に叫ばれている屋久島でさえ、菌寄生植物の生えるような環境は、世界遺産にも国立公

園にも指定されておらず、その価値が軽視されている。私の研究で菌寄生植物とそれを支える森の保全が可能になったとしても、それを振りかざしただけでは、実現が難しいのが現状である。このため、まずは菌寄生植物の存在と、菌類や送粉者に支えられて生きている生き様を明らかにし、それを地元の方々に知ってもらうことで自然に新たな価値を与えたいと考えている。

研究者は、どうしても一年中ずっと現場に張り付くことはできないため、研究者だけによる保全には限界があり、地元住民や行政と協同しながら、成果を保全の現場に活かすことが重要である。そのためには、やはり地元の方々の意識が、保全を円滑に進めていくうえでは重要である。幸いなことに、直接見えない植物と菌の相互作用を、「共生のネットワーク」として視覚的な理解をはたらきかける試みは、一般の方に興味を持っていただいている。さらに一歩進めて地元の方に実際の保全活動に参加してもらう試みも開始している。地元にいるとその環境が当たり前になっている部分も多いので、その希少性を認識しづらいものの、その貴重性を丁寧に説明することで地元の宝という意識の共有を計っていきたいと考えている (Fig. 16)。しかしながら、どんなに珍しく、生態系を保護する上で重要なことわかっていても、それが経済活動につながらなければ、モチベーションを高めることが難しいというのが現実問題である。今後、地元の方や行政とも協力しながら観光資源としてのアピールができないかといった観点も探りつつ、さらなる解析や保全活動を行っていききたい。



先生のおかげでランを見に来る観光客もきてくれるようになりました！
ぜひまた研究にきてください！

<http://mishima.link/?p=9624>から抜粋

Figure 16. 三島村での活動の様子。地元住民と役場職員と共同で調査を実施した。

引用文献

Bidartondo, M. I., Redecker, D., Hijri, I., Wiemken, A., Bruns, T. D., Domínguez, L. & Read, D. J. 2002. Epiparasitic plants specialized on arbuscular mycorrhizal fungi.

Nature, 419(6905), 389-392.

福永裕一・末次健司・長谷川匡弘・澤進一郎 2015 近畿地方にエンシュウムヨウラン（ラン科）を記録する 分類 **15**: 191-194.

環境省. 2015. 修正版レッドリスト（植物I）維管束植物. 環境省, 東京.

勝山輝男・稲垣精秋. 2007. ラン科サカネラン属の未知の種タンザワサカネラン（仮称）. *Flora Kanagawa*. **64**: 796-797.

Hashimoto, T. 1990. A taxonomic review of the Japanese *Lecanorchis* (Orchidaceae). *Ann. Tsukuba Bot. Gard.* **9**: 1-40.

芹沢俊介. 2005. 愛知県のムヨウラン類. 分類 **5** (1): 33-38.

Suetsugu, K. 2012. New record of the mycoheterotrophic orchid *Lecanorchis kiusiana* forma *lutea* outside the type locality. *Journal of Phytogeography and Taxonomy* **60**: 35-37.

Suetsugu, K. 2017. Two new species of *Gastrodia* (Gastrodieae, Epidendroideae, Orchidaceae) from Okinawa Island, Ryukyu Islands, Japan. *Phytotaxa* **302**: 251-258.

末次健司・福永裕一 2016. ムロトムヨウラン（ラン科）を屋久島に記録する 分類 **16**: 207-209.

末次健司・福永裕一・西川博章・村長昭義・森小夜子 2017 エンシュウムヨウラン（ラン科）を滋賀県に記録する 分類 **17**: 53-58.

末次健司・福永裕一 2017 タブガワムヨウラン（ラン科）を福江島に記録する 分類 **17**: 71-73.

Suetsugu, K. and H. Fukunaga 2016. *Lecanorchis tabugawaensis* (Orchidaceae, Vanilloideae), a new mycoheterotrophic plant from Yakushima Island, Japan. *Phytokeys* **73**: 125-135.

Suetsugu, K., T.C. Hsu, H. Fukunaga and S. Sawa 2016. Epitypification, emendation and synonymy of *Lecanorchis taiwaniana* (Vanilleae, Vanilloideae, Orchidaceae). *Phytotaxa* **265**: 157-163.

Suetsugu, K., T.C. Hsu and H. Fukunaga 2017. Lectotypification of *Lecanorchis ohwii* (Vanilleae, Vanilloideae, Orchidaceae) with discussions of its taxonomic identity. *Phytotaxa* **309**: 259-264.

Suetsugu, K., T.C. Hsu and H. Fukunaga 2017. The identity of *Lecanorchis flavicans* and *L. flavicans* var. *acutiloba* (Vanilleae, Vanilloideae, Orchidaceae). *Phytotaxa* **306**: 217-222.

内山治男. 2010. 茨城県の植物観察記録(2). 茨城植物研究 **3**: 70-74.

谷亀高広. 2010. 新植物図鑑 18 タンザワサカネラン. 趣味の山野草 2010年6月号: 55-57.

Yagame, T., T. Katsuyama and T. Yukawa. 2008. A new species of *Neottia* (Orchidaceae) from the Tanzawa Mountains, Japan. *Acta Phytotax. Geobot.* **59**: 219-222.

山下由美・山下俊之・移川 仁・小笠原宏晃・黒沢高秀. 2013. 東北地方新産のタンザワサカネラン（ラン科）とその生育地および花の形態. 分類 **13**: 119-122.