

論 文

絶滅が危惧される無葉緑植物タカツルラン (ラン科) の
自生区域における増殖のためのキノコの有用性馬田 英隆¹⁾・兼子 麻伊²⁾・宮城 健³⁾・中平 康子³⁾

1) 鹿児島大学農学部附属演習林 〒890-0065 鹿児島市郡元1-21-24

2) 西尾市立福地中学校 〒445-0882 愛知県西尾市上道目記町上新田12

3) 沖縄県林業試験場 〒905-0017 沖縄県名護市大中4-20-1

The application and utilization of fungi for the propagation of the
endangered achlorophyllous plant, *Erythrorchis ochobiensis*
(Hayata) Garay (Orchidaceae) in natural situationsUMATA Hidetaka¹⁾, KANEKO Mai²⁾, MIYAGI Tsuyoshi³⁾ and NAKAHIRA Yasuko³⁾

1) University Forests, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, 1-21-24 Korimoto, Kagoshima 890-0065, JAPAN

2) Fukuchi Jr. High School, 12 Kamishinden, Kamidoumeki-cho, Nishio, Aichi 445-0882, JAPAN

3) Okinawa Prefecture Forestry Experiment Station, 4-20-1 Oonaka, Nago 905-0017, JAPAN

Received Jun 29, 2007 / Accepted Nov 1, 2007

Abstract

Global deforestation or the decline in forests is causing serious damage to forest plants. For example, a considerable number of plant species have become extinct or are endangered. The aim of this investigation was to obtain fundamental information for the conservation of such endangered species in the natural world. In this study, the achlorophyllous orchid, *Erythrorchis ochobiensis* (= *Galeola altissima*) was studied as a case for conservation; it inhabits broad-leaved forests, in particular the *Castanopsis* forest. The achlorophyllous orchid is critically endangered in Japan because of habitat loss due to logging. This orchid establishes a mycorrhizal association with wood-rotting basidiomycetes through colonizing fungi within their own roots. This orchid lost photosynthetic ability and depends on the fungi for carbons throughout its life cycle including seed germination, suggesting that the fungi is undoubtedly a useful tool for the propagation of this orchid.

The plants of the *E. ochobiensis* orchid were prepared as follows. An associating fungus of the orchid was isolated from its root. Then the fungus and the seeds of the orchid were co-cultured *in vitro* to obtain the various stages of the plants from the protocorm to the matured seedling with well developed roots and scaly leaves.

An attempt of propagation of the *E. ochobiensis* was achieved by the burial of the whole plant in soil with and without a saw-dust medium on which the fungus was growing. In the present study, the effect of the fungus, the growth stage of the plants and the best season in which to establish the symbiotic relationship was investigated.

The results obtained were as follows. (1) The examined plants of the *E. ochobiensis* grew only when they were set in the soil with the medium on which the fungus was growing. If the medium lacked the cultivating fungus, the orchid died. (2) The desirable growth stage of the orchids for transplantation occurred when the roots and the stems grew well. (3) The most desirable conditions for transplantation are those with high temperatures and plenty of rainfall. Optimum conditions for the mycobiont and the orchid growth are found during June, August and September. It is suggested that the northernmost location of this orchid distribution is on the island of Tanegashima in Kagoshima Prefecture, (4) Orchids with developed roots made new associations with the fungi inhabiting woods if they were symbiotic.

Key words : achlorophyllous orchid, conservation, endangered plant, *Erythrorchis ochobiensis*, *Galeola altissima*, mycorrhizal association, utilization of fungi

キーワード：無葉緑植物, 保全, 絶滅危惧種, タカツルラン, キノコの利用, 菌根共生

はじめに

現在、世界的に進んでいる森林の攪乱と劣化は森林に生息する植物に大きな影響を与えている。その結果、これら植物の中にはすでに絶滅した種、あるいは絶滅が危惧されている種が少なくない。そのため、希少種あるいは絶滅危惧種の保全と増殖が希求されているが、今なおそのための有効な手段と技術は不十分である。生物界はこれまで生物同士が互いに影響し合いながら共進化することによってその土地に特有の生物多様性を生み出してきた。従って、絶滅が危惧される種を保全することは生物進化の観点からもまた生物多様性保全の観点からも必要かつ重要である（井上ほか, 1998）。

絶滅危惧種を多数含む植物にラン科植物がある。ラン科植物は地球上に最も遅く出現した植物群と考えられ、その種数は20,000~28,000にもものぼるといわれる大きな植物群

である（遊川（国立科学博物館筑波実験植物園），私信）。しかし、現在では多くの種において絶滅が危惧され、わが国の絶滅危惧植物（維管束植物）の中でも12%を占める（環境庁自然保護局野生生物課 2000）。ラン科植物のライフスタイルの大きな特徴に、受粉から種子の発芽・生長までを他者に依存するという特異な戦略を採っている点をあげることが出来る。受粉に関しては、例えば、花の構造や花が発散する物質が送粉に関与する昆虫と密接な関係を有していることなどは古くから知られている（Darwin 1862）。一方、地下では根と担子菌類との間で共生関係を築き（菌根共生という）、共生菌から炭化物などの養分の供給を得ている（Rasmussen 1995; Smith and Read 1996）。また、ラン科植物の種子は無胚乳でほこり種子と呼ばれるほどに微小である。種子を形作る胚はわずか数百個の細胞の集合体からなり、しかもこれら胚細胞の中には栄養物がほとんど無い。ラン科植物はこのような種子を共生菌の力を借りて



図1. タカツルランの生態

①：枯死した樹木に着生するタカツルラン。手前の人物は165cm。②：花序。③：木の幹に付着している地上茎と付着根。④：地上茎から発生した長根の両側に発達したマット状の短根。樹木に付着すると共に樹幹内の木材腐朽菌と菌根共生関係を成立させている。2005年6月18日。鹿児島県種子島中種子町。この個体はその後の台風で果実を得ることなく着生していた木と共に倒伏・枯死した。

発芽させる。さらに、発芽した種子にはしばらくは葉緑素が形成されないため、共生菌は発芽した種子が生長して独立栄養が可能となる段階まで栄養物を供給し続ける (Arditti 1991)。

このようなラン科植物の中に、無葉緑ランと呼ばれる一群がある。無葉緑ランは緑色ランに対応する名称で、葉は退化して鱗片葉となり、しかも葉緑素を欠くかあるいは発現してもわずかである。ほとんどの無葉緑ランが絶滅危惧種である。これらのランは種子発芽においては共生菌の関与を必要とし、また、栄養的には光合成能力を欠くので発芽からその後の生長に至るまでの一生を通して共生菌に依存しなければならない (Leake, 1994)。このことは、菌根共生の関係を利用すれば、共生菌が植物の保全と維持のための生物資源として利用できる可能性を示唆している。なお、一般に緑色ランの共生菌はリゾクトニア (*Rhizoctonia*) 種が主となっているのに対し、無葉緑ランではいわゆるキノコを作る木材腐朽菌や外生菌根菌が主となっている (Smith & Read 1996, Tsujita 2006; Yokoyama *et al.* 2006)。

以上のようなことから、本研究ではキノコの共生機能を利用して無葉緑ランの森林内での増殖技術の開発に必要な基礎的な情報を得ることを目的とした。供試植物としてタ

カツラン (*Erythrorchis ochobiensis* (Hayata) Garay = *G. altissima* Reichb. f.) をとりあげた。タカツランはわが国の環境省カテゴリーでは絶滅危惧 I A 類の CR (ごく近い将来において野生での絶滅の危険性が極めて高いもの) に分類され、減少の主要因として森林の伐採や土地造成が挙げられている (環境庁自然保護局野生生物課 2000; 鹿児島県環境生活部環境保護課 2003)。

タカツランの特質として以下のような事例を挙げる事が出来る。(i) ほとんどの無葉緑ランが試験管内での培養が困難で、タカツランにおいても種子だけを培養したのでは全く発芽しない。しかし、共生菌と共に培養すると発芽・生育するので、共生菌の機能が明瞭である (Umata 1998a,b)。(ii) キゾメウロコタケ (*Erythromyces crocicreas* (Berk. Et Br.) Hjorst. et Ryv.) やシイタケ (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus* (Jack.:Fr.) Kummer) などの多数の木材腐朽菌と共生が可能のため (Umata 1998a,b, Umata *et al.* 2000), 各共生菌の機能を比較することが出来る。(iii) 牧野・根元 (1931) によれば地上茎の長さは40mにも達し、世界的にも最長のランの一つである (図1)。(iv) ほとんどの無葉緑ランは花序が地下で抽苔した後に初めて地上に姿を現すのに対して、タカツ

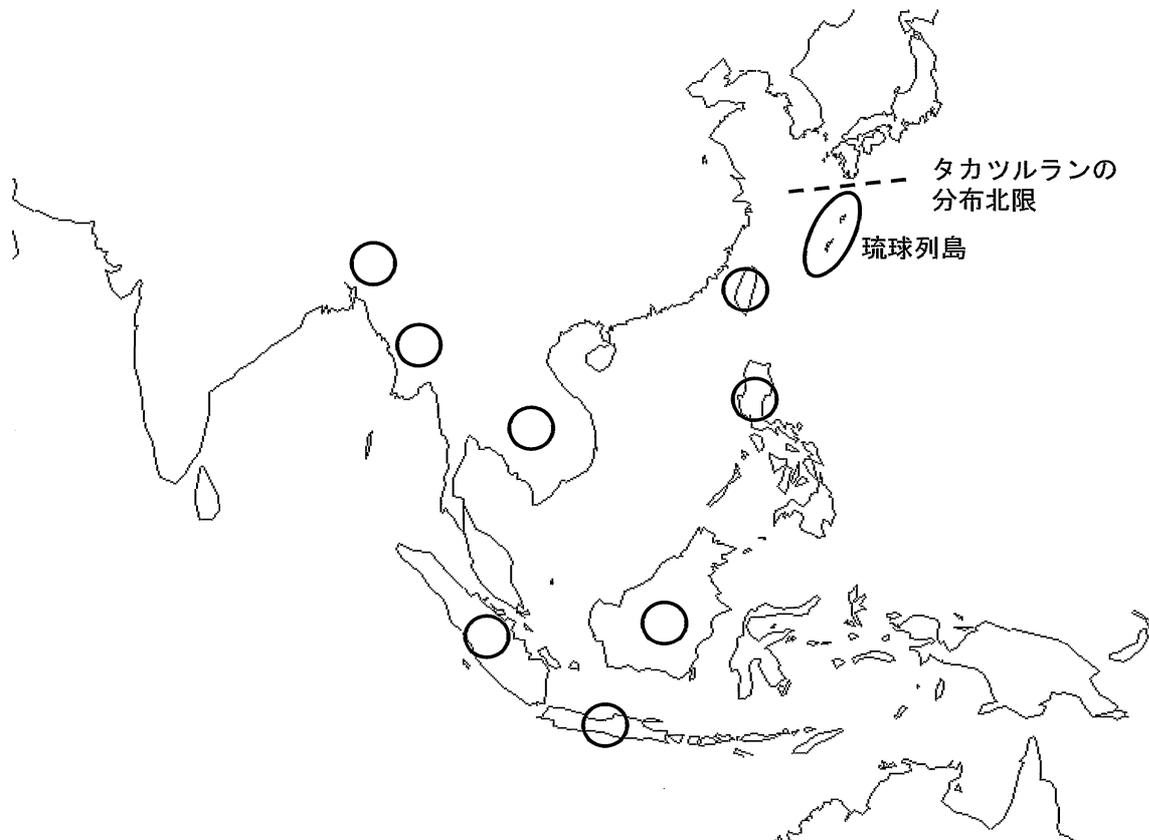


図2. タカツランの分布

ルランは例外的に地上茎が多年化し、着花・結実後も伸長し続けるという特異な性質を有している(図1)。このことは増殖の成否判定および継続的な調査を可能にする。(v) インドのアッサムからわが国の琉球列島の北端(種子島・屋久島)まで広範に分布し(里見 1982, 図2), 国際性がある。(vi) これまでの研究によれば, タカツルランはその生息の場としてシイ林との親和性が非常に高い(馬田ほか 1994) ことから, タカツルラン-シイ林-共生菌の3者の間には密接な関係があると推定される。

材料と方法

材 料

(1) タカツルランの種子

種子は, 2002年10月31日と2005年10月28日に, 鹿児島県西之表市古田で採集した。これまで, 琉球列島(図2, 3)の各所(種子島, 屋久島, 徳之島, 沖縄本島, 石垣島, 西表島)で種子の採集を試みてきたが, 種子の入手は困難であった。その理由として, これまでの観察から次のようなことが考えられる。(i) 個体数が少ない。(ii) 地上に出てから開花するまで数年かかるようであるが, 開花しても結実せずに落花することが多い。(iii) 結実しても台風などによりダメージを受ける。(iv) 地上に出て樹木に着生しても, 樹木が小さく貧弱だとその木に生息している共生菌からのタカツルランへの栄養供給が不十分のようで, タ

カツルランは枯死する。また, 着生した樹木が健全な場合には共生菌となる木材腐朽菌が生息していないので, この場合もタカツルランは枯死するようである。

(2) 供試菌

供試菌(菌株番号R204)は野外のタカツルランの付着根(例として図1の④に付着根を示す)からWarcup and Talbot (1967)の方法で分離し, PDA培地で系統保存をしてきた。供試菌R204の分類的位置は子実体の発生に成功していないので種を特定できないが, その培養特性からキノコブタケ属(*Phellinus*)の一種と考えられる(馬田, 未発表)。

方 法

移植は供試材料を土壤中に埋設することによって行い, その成否は移植された植物体の継続的な生育をもって判断した。増殖条件は次の4点について調査した。(1) 移植に伴う共生菌(キノコ)の効果, (2) 移植に適する植物体の生長段階, (3) 移植の時期, (4) その他。

(1) 供試植物の準備

供試植物はその生長段階に応じて, 次の5段階に分けた。(i) 種子, (ii) 根や茎などの器官が未分化な発芽初期の植物体(以降, プロトコーム)。(iii) 根と茎が未分化の植物体(以降, リゾーム)。(iv) 根と茎が明瞭に分化した植物体(以降, 小植物体)。(v) 更に生長した植物体(以降, 大植物体)。プロトコーム以上の供試植物は, 以下に述べるような方法で種子と共生菌とを共生培養することによ

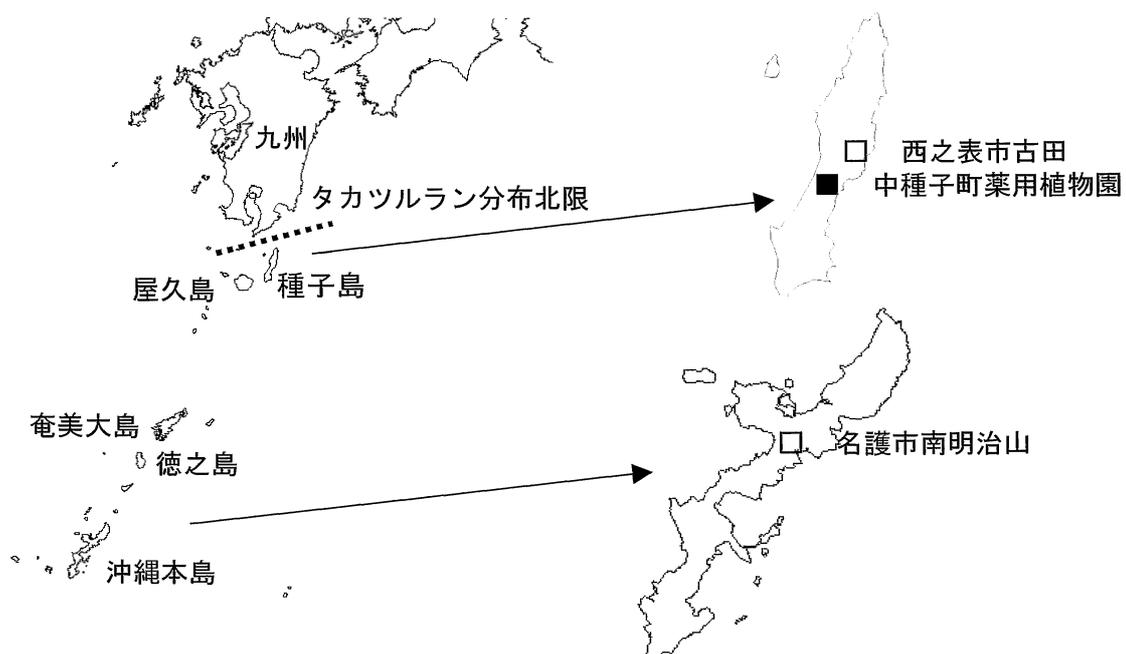


図3. タカツルラン植物体を埋設した地点

□: タカツルランが自生。 ■: タカツルランが自生せず。

表 1. 改変農試培地

Mannitol	20g
Yeast extract	2g
MH ₄ NO ₃	0.06g
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	0.017g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.24g
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.2g
CuSO ₄ · 7H ₂ O	0.08g
KCl	0.4g
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.04g
KH ₂ PO ₄	0.6g
H ₃ BO ₃	0.6g
H ₂ MoO ₄ · H ₂ O	0.2g
EDTA-Na-Fe-Salt	0.03952g
Distilled water	1000ml

て得た。

①共生菌の培養

植物培養フラスコ (200ml) にブナ (*Fagus crenata* S. & Z.) のオガ粉25g (気乾重) と農試培地 (森ほか, 1969) を一部改変した改変農試培地 (表 1) を60ml入れ, オートクレーブで121℃ - 30分間滅菌した。滅菌した培地に共生菌を接種し, 27.5℃で2~3週間培養し, 菌糸を十分に繁茂させた。

②種子の準備

次のような手順で, 共生培養用のタカツランの無菌種子を得た。(i) タカツランの種子をクリーンベンチ内で75%エタノールに1分間浸した後, 高度さらし粉 (有効塩素濃度60%以上) の10% (W/W) 溶液の濾過液に10分間浸した。その後, 滅菌水で2~3回洗浄した後にクリーンベンチ内で4~5時間乾燥させた。(ii) 滅菌した種子を150℃で1時間乾燥滅菌した竹串 (直径3mm, 長さ4~5cm) の上部に付着させた。この時の竹串1本当たりの種子数は60~120個であった。種子が付着した竹串を試験管内のPDA培地に挿しつけ, 25℃で培養した。(iii) 培養1週間後に種子と竹串をルーベもしくは実体顕微鏡下で雑菌混入の有無を調べ, 雑菌混入がなかった種子のみを竹串と共に共生培養に供した。雑菌混入があった種子は再度同じ行程を繰り返すと再び実験に利用することが可能であるとの報告に基づき (富山 2000), 本実験でも試みたところ無菌種子を得ることができた。

③共生培養

タカツランの種子と共生菌との共生培養を行い, プロトコーム, リゾーム, 小植物体ならびに大植物体の4群の生長段階の植物体を得た。

(i) プロトコーム, リゾーム, 小植物体

雑菌混入が認められなかった種子を竹串と共に供試菌が

繁茂した培養フラスコに, 1フラスコ当たり3~4本ずつ挿し付け27.5℃で1~3ヶ月間暗所培養してプロトコーム, リゾーム, 小植物体を得た (図4-①, ②, ③)。

(ii) 大植物体

上記で得たリゾームをさらに以下の培養基に移植し, 培養を続けて大植物体を得た (図4-④, ⑤)。(a) 容器は1000mlの培養ビンを使用した。(b) ブナのオガ粉-米ぬか培地 (以降, オガ粉培地) を容器に400ml入れて, 121℃ - 1時間のオートクレーブ滅菌を行った。培地はオガ粉と米ぬかを容積比で10:1の割合で混合し, 容積400mlに対し水道水180mlを入れて作整した。また, スダジイ (*Castanopsis sieboldii* Hatusima) 材の利用も試みた。スダジイ材を利用するときはオガ粉培地は200mlとした。スダジイ材は前もって0.5%のショ糖液で2時間煮沸したものを用いた。なお, スダジイの重量は求めなかった。

(2) 埋設場所

野外と室内で増殖試験を行った。

①野外実験

野外実験はタカツランが自生している森林と, 発生が確認されていない森林で行った (図3)。タカツランが自生している森林として, 鹿児島県種子島の西之表市古田の国有林と沖縄県名護市南明治山にある沖縄県林業試験場の試験林を選んだ。また, タカツランの発生が確認されていない森林として種子島の中種子町にある薬用植物資源研究センター (以降, 薬草園) 内の森林を選んだ。これまでの研究からタカツランはシイノキの森林と親和性が高いことが明らかになっており (馬田ら, 1994), 選択した森林はいずれもシイノキの森林であった。

3箇所の森林の概要は以下の通りである。

古田: ツブラジイ (*Castanopsis cuspidata* Schottky) を優占種とする森林で, イスノキ (*Distylium racemosum* S. & Z.) やクロガネモチ (*Ilex rotunda* Thunb.) を混じ, ヤクタネゴヨウ (*Pinus armandii* var. *amamiana* Hatusima) が数本点在する。土壌はやや粘土質である。タカツランは主に尾根部に生育し, 埋設箇所も尾根部を選んだ。

薬草園: 里地に位置し, 地形は平坦である。スダジイを優占種とする森林で, 土壌は砂質である。現在までにタカツラン発生記録はない。

南明治山: スダジイを優占種とする森林で, リュウキュウマツ (*Pinus lutchensis* Mayr) などが混じ, 土壌は粘土質のラテライトである。タカツランは尾根部周囲に生育し, 埋設試験は尾根部で行った。

②室内実験

野外実験のための予備実験としてあるいは補完実験として, 室内実験を行った。培養は27.5℃ - 暗所培養 (インキュ

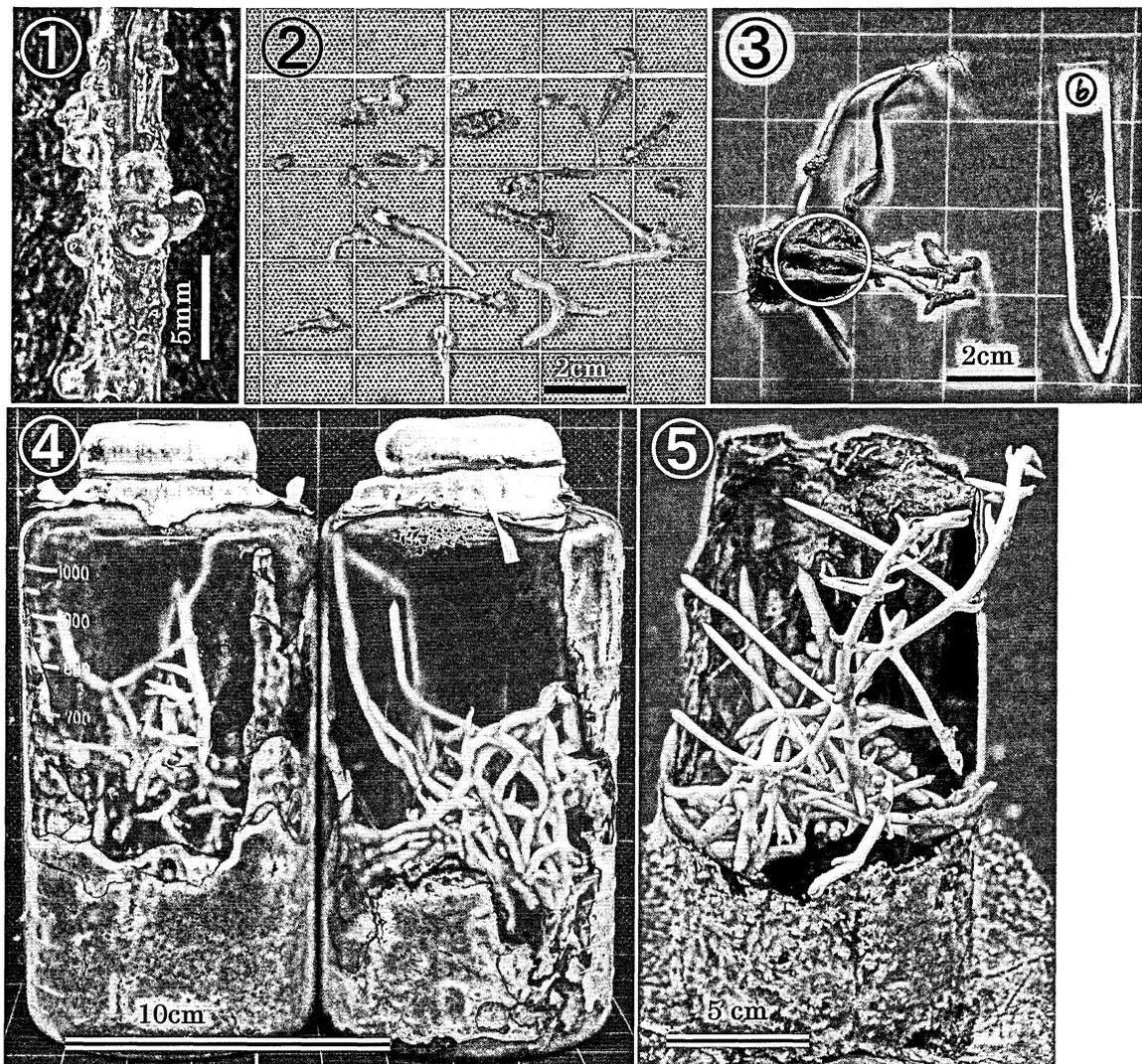


図4. 埋設に用いたさまざまな生長段階のタカツラン

①：発芽して間もない竹串上のタカツランのプロトコム。②：根と茎が未分化のリゾーム。③：リゾームが成長した小植物体。○は共生菌が生息しているオガ粉培地を示す。④：ポット（1,000ml）で共生菌と共に十分に生育させたタカツラン（大植物体）。⑤ポットから取り出したスダジイ材に着生しているタカツランの大植物体。

ベータ使用)を基本とし、室温でも行った。

(3) 埋設の方法と時期

埋設の方法は (A) 植物体のみを埋設する, (B) 植物体を共生菌が生育している培養基と共に埋設する, の2通りを基本として, いろいろな方法を試みた。その詳細と埋設時期は以下の実験番号と共に記す。なお, 生長段階ごとの埋設個体数は1個所につきプロトコムはプロトコムが付着している竹串(図4-①)を2~3本, リゾームは7~15個, 小植物体と大植物体は1~3個であった。

A-1 植物体のみを埋設

実験番号① 種子島古田地区における小植物体の埋設

2003年10月15日実施：生立木のコジイを5本選び, その根元に4個のタカツランのリゾームにする~小植物体をコジイ1本ごとに埋設した。ただし, いずれの植物体もわ

ずかであるが, その基部に共生菌が生息しているオガ粉培地が付着していた(図4-③)。

実験番号② 沖縄県南明治山におけるプロトコムと小植物体の埋設

2004年02月12日実施：タカツランのプロトコムと小植物体をスダジイの根元や周囲に埋設した。スダジイの中には樹上にタカツランが生育している個体もあった。

実験番号③ 種子島菓草園におけるプロトコムとリゾームの埋設

2004年03月18日実施：ナイロン製の網袋にプロトコムとリゾームを入れて7個所に2袋ずつ埋設した。

A-2 植物体を共生菌繁殖用の栄養資材と共に埋設

実験番号④ 種子島古田地区と菓草園におけるプロトコムとリゾームの埋設

2004年10月13日実施：共生菌の栄養資材としてブナのオガ粉を滅菌（以降、滅菌済みオガ粉）して植物体と共に埋設した。ビニールポットにタカツランのプロトコムとリゾームを滅菌済みオガ粉と共に入れてシイノキの根元に埋設した。同時に、野外での種子発芽の調査のために種子をポリエステル製の袋に入れ（種子数1,400~2,000個/袋）、ビニールポットの横に各2袋埋設した。各地点の埋設植物体の生長段階を表2に示す。

実験番号⑤ 室内におけるリゾームの培養

2004年12月25日実施：リゾームを滅菌済みオガ粉と共に次のようにして培養した。11個の素焼鉢と4個のビニールポット用意し、各容器に滅菌済みオガ粉を入れ、それぞれ1個の植物体を入れた（図5-①）。鉢の滅菌処理はしなかった。乾燥防止のために鉢の上をビニールで覆った後に、ダンボール箱に入れて室温で培養した。

B 共生菌と共に埋設

実験番号⑥ インキュベータ内で種子とプロトコムをシイタケ菌のホダ木と共に培養

2004年12月25日実施：タカツランの種子とプロトコムを鹿児島大学農学部附属高隈演習林で栽培されていたシイタケ菌のホダ木（長さ約100cm、直径約10cm）と共に埋設した。シイタケ菌はタカツランと共生することが実験的に確かめられている（Umata, 1999）。ホダ木は種ゴマが打たれてから3年経ったものであった。2004年12月22日にホダ木を長さ40~50cmに切断して濡れ新聞紙で包み、冷蔵庫に保存した。12月25日にホダ木を長さ約15cmに切断し、縦に4つに割り、2本を1セットとして使用した。すなわち、縦に割ったホダ木の断面に種子またはプロトコムを付着させ、対応する断面を合わせて輪ゴムで括った（図6-①）。プロトコムを付けたものを7セット、種子を付着させたものを6セット用意した。その後、水で濡らした新聞紙に包みビニール袋に入れて27.5℃で3ヶ月間培養した。水分の補給は霧吹きで適宜行った。

また、腐朽が進んでいる古いホダ木の利用も以下のようにして試みた。種子とプロトコムをホダ木に付着させ、上記と同じように濡れ新聞で包みビニール袋に入れて培養した。古いホダ木にはキクイムシの穿孔が多数あり、シイタケ菌の他にさまざまな菌が繁殖していた（図6-③, ④, ⑤）。

実験番号⑦ 種子島古田地区と葉草園における種子、プロトコムとリゾーム、および小植物体の埋設

2005年05月20日実施：埋設するタカツランを生長段階に応じて種子、プロトコムとリゾームとの混合区、および小植物体の3群に分けた。次いで、種子と植物体をそれぞれ共生菌が繁茂しているオガ粉（以降、共生菌オガ粉）と共にジフィーポット（微生物分解が容易なピートモスを

素材にしたポット）に入れ、上部を滅菌済みオガ粉で被覆した。滅菌済みオガ粉で覆ったのは、乾燥防止と急激な外部の菌の侵入を防ぐことができると考えたことによる。また、対照実験として滅菌済みオガ粉の使用を試みた。

埋設実験は種子島の古田と葉草園で行った。各埋設個所の植物体の生長段階やオガ粉上の共生菌の有無などの埋設条件を表3に示す。なお、表3における埋設地点の古田-1, 2, 3は表2における古田-1, 2, 3と同一の地点である。古田-4と5は新たに設けた2本のシイノキの根元で、数年前まではこれら2本のシイノキにはタカツランが自生していた。

実験番号⑧ インキュベータ内で小植物体をタカツラン自生地の土壌で培養

2005年12月13日実施：小植物体が生育していたフラスコに腐植土を詰めて27.5℃で暗所培養した。腐植土は2005年10月28日に種子島古田の埋設に利用している森林で採取し、冷蔵保存（5℃）していたものである。

実験番号⑨ 種子島古田地区における大植物体の埋設

2006年8月22日実施：古田の5個所の地点において、微生物分解が困難な材質の容器（プラスチック製ポット）の中でタカツランを生長させて大植物体とし（図7-①, ②）、容器と共に1個所に2本のポットを土中に埋設した（図7-③, ④）。埋設の前に、2005年10月28日に同地区で採集した腐植土を150℃で1時間乾燥滅菌したものをポットの口に詰めた。土壌を詰めたのは乾燥防止と外部からの菌の急激な侵入防止のためであった。埋設に際しては、ポットの口からの雨水の侵入を避けるために、上部を枯れ木で覆った。

実験番号⑩ インキュベータ内で大植物体をシイタケ菌およびオオウロコタケ菌のホダ木と共に培養

2006年11月17日実施：用いた植物体は2006年8月に種子島に埋設した植物体と同齢で、インキュベータで培養を続けていたものである（図4-④, ⑤）。蓋付きのプラスチックケース（W31×L42×H30cm）に植物体を培養基と共に入れ、栽培シイタケのホダ木（3年）またはオオウロコタケが発生していたシイノキ材を野外で採集して、植物体の周囲と上部を埋めた。空隙は防湿と保護のためにシイノキ林で腐葉土を採取して充填した。その後に表面を新聞紙で覆って蓋をした（図8-①~④）。埋設植物体は培養容器として使用していたプラスチック製ポットと共に埋設する場合と、ポットから取りだして埋設する2通りの方法を試みた。25℃の暗所において培養し、灌水は水道水を適宜与えた。

実験番号⑪ インキュベータ内で小植物体を竹筒の容器で培養

2006年12月23日実施：竹筒の培養容器としての可能性を確かめるために行った。孟宗竹の竹筒（直径10cm前後、長さ約40cm）をオートクレーブで121℃で1時間滅菌した。滅菌した竹筒に小植物体を培養基と共に入れ、オガ粉培地を充填した。竹筒の口は新聞紙で蓋をし、さらにビニール袋に包み上部を輪ゴムで閉じ、27.5℃の暗所において培養した（図9-①～③）。

結 果

A-1 植物体のみを埋設

実験番号① 種子島古田地区における小植物体の埋設

2004年10月14日調査：植物体のすべてが腐朽または消失

していた。

実験番号② 沖縄県南明治山におけるプロトコムと小植物体の埋設

2004年10月06日調査：埋設した植物体はすべてが腐朽または消滅していた。

実験番号③ 種子島菓草園におけるプロトコムとリゾームの埋設

2004年10月13日調査：埋設した植物体のすべてが枯死または腐朽していた。

A-2 植物体を共生菌繁殖用の栄養資材と共に埋設

実験番号④ 種子島古田地区と菓草園におけるプロトコムとリゾームの埋設

2005年05月20日調査：表2が示すように、埋設した全て

表2. 生長段階が異なるタカツラン植物体の埋設31週間後の共生菌と植物体の生長（実験番号④）

埋設地点	供試番号	埋設した植物体の生長段階	共生菌の添加*	菌糸生長	植物体の生長
古田-1	1, 2	プロトコムとリゾーム	無	わずかに繁殖	枯死
		種子	無	-	発芽なし
古田-2	3	プロトコム	無	わずかに繁殖	枯死
		種子	無	-	発芽なし
古田-3	4, 5	リゾーム	無	なし	枯死
		種子	無	-	発芽なし
菓草園-1	6	リゾーム	無	なし	枯死
		種子	無	-	発芽なし
菓草園-2	7	プロトコム	無	なし	枯死
		種子	無	-	発芽なし
菓草園-3	8	リゾーム	無	わずかに繁殖	枯死
		種子	無	-	発芽なし
菓草園-4	9	リゾーム	無	なし	枯死
		種子	無	-	発芽なし
菓草園-5	10	プロトコム	無	わずかに繁殖	枯死
		種子	無	-	発芽なし

* 共生菌の添加は共生菌を繁殖させたオガ粉と共に埋設することによって行った。

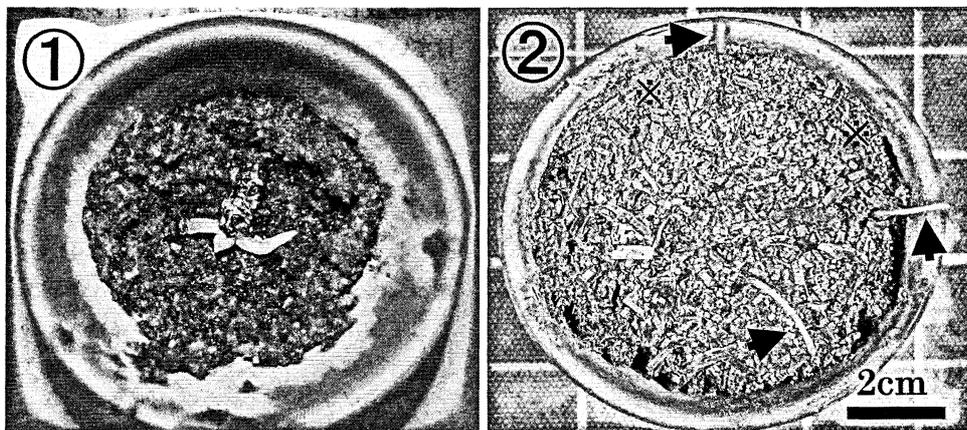


図5. タカツラン小植物体を滅菌済みオガ粉と共に室内で培養（実験番号⑤）

①：小植物体を滅菌済みオガ粉と共に鉢で培養。2004年12月25日。②：埋設149日後にはタカツランの根（矢印）が生長してオガ粉表面に現れた。オガ粉は白化していたが、鉢の縁部の一部には外部由来の灰色の雑菌（※）が見られる。2005年5月23日。

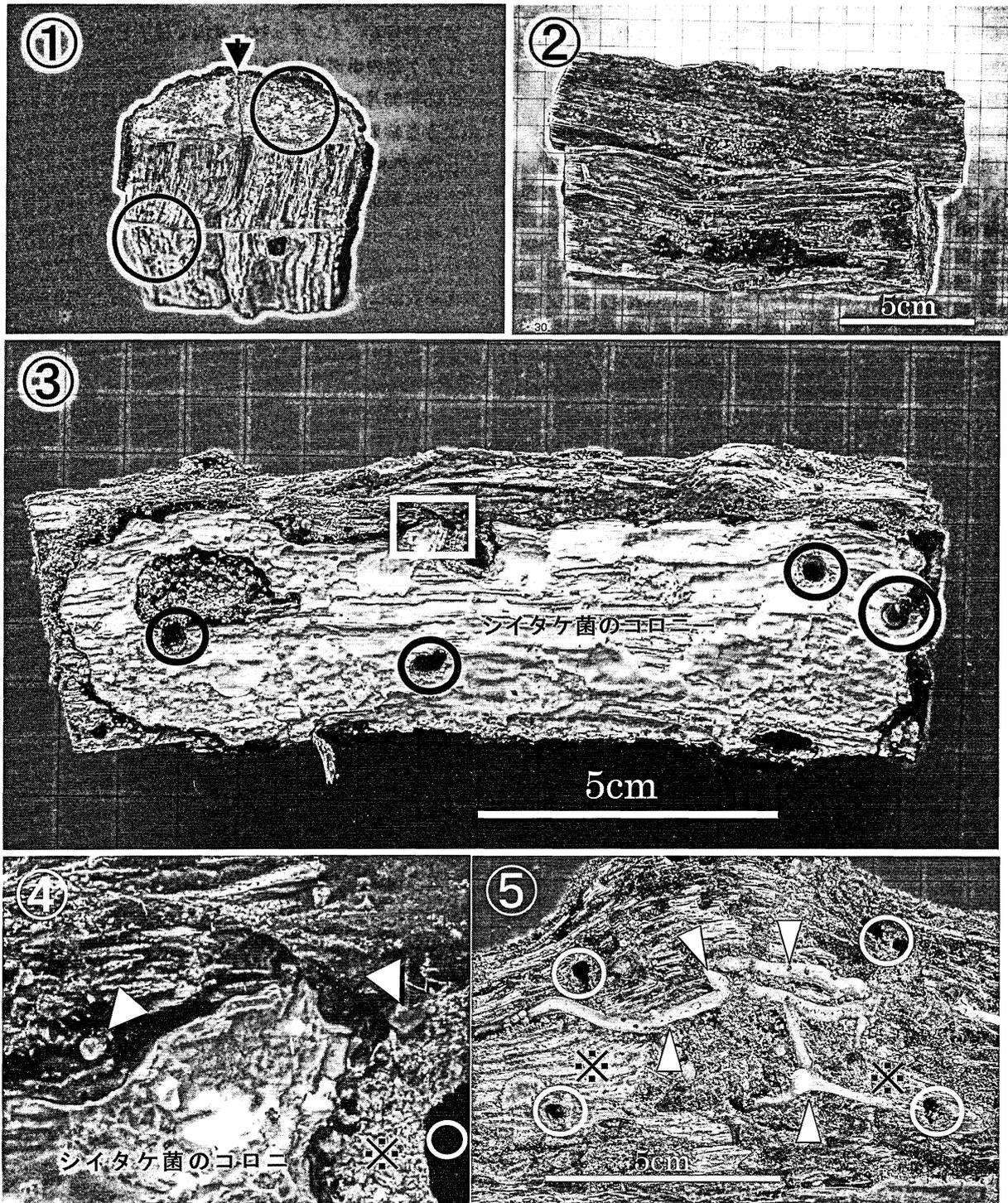


図6. タカツランの種子とプロトコームをシイタケのホダ木に接種 (実験番号⑥)

①: シイタケのホダ木を縦に四つ割にし、その切断面に種子とプロトコームを附着させた後に、ホダ木を接合して(↓)輪ゴムで括る。切断3日後には、材中のシイタケ菌が切断面に繁茂してきた(○)。②~⑤: 接種15日後の種子とプロトコーム。②: ホダ木表面を覆っていたシイタケ菌は、褐変して疎水的性質を持った膜状となり、そのために種子は菌糸表面に接着出来ずに発芽していない。③: 発芽はコロニーの周辺部(□)で見られる。○はキノコムシ幼虫による穿孔。右端の○の中にキノコムシの幼虫が頭を出している。④: ③の□の拡大図。矢印は発芽した種子。種子の発芽はコロニーの周縁部(左の矢印)やシイタケ菌とは種類の菌(※)との接触部(右の矢印)で見られる。別種の菌はキノコムシの穿孔から侵入したと思われる。○はキノコムシ幼虫による穿孔。⑤: ホダ木の上で生長したプロトコーム。※は外部から侵入してきたシイタケ菌とは別種の菌。○はキノコムシ幼虫による穿孔。

の植物体が枯死また分解され、種子も発芽していなかった。オガ粉内の菌糸繁茂は半数の個所で認められたが、その繁茂状態は微々たるものであった。

実験番号⑤ 室内におけるリゾームの培養

2005年5月23日調査：すべての鉢で植物体が生長していた（図5-②）。鉢のオガ粉は共生菌の繁茂により白色化しているものがあった。また、オガ粉には外部由来の灰色の雑菌が繁茂していたが、植物の生長に影響は無いようであった。

B 共生菌と共に埋設

実験番号⑥ インキュベータ内で種子とプロトコームをシイタケ菌のホダ木と共に培養

2005年05月25日調査：培養開始151日後に観察し、以下のような結果を得た。

(a)ホダ木を縦に割裂して3日以上たつと、シイタケ菌が表面に繁茂してきたが、そのようなホダ木に種子を播種した場合、ホダ木表面を覆っていたシイタケ菌は褐変して厚膜化し、水をはじき疎水性となっていた。そのため、種子は菌糸表面に接着出来ず、発芽していなかった（図6-②）。

表3. タカツラン植物体の生長段階と共生菌添加の有無が埋設後の共生菌と植物体の生長に与える効果
—埋設16週間後と23週間後の共生菌と植物体の生長—（実験番号⑦）

埋設地点*	資料番号	埋設した植物体の生長段階	共生菌の添加**	埋設期間(日)	菌糸生長	植物体の生長
古田-1	1	プロトコームとリゾーム	有	105	なし	枯死
	2	小植物体	無	105	なし	枯死
	3	種子	有	105	わずかに繁殖	発芽なし
	4	プロトコームとリゾーム	有	160	なし	分解・消失
	5	プロトコームとリゾーム	無	160	なし	分解・消失
	6	種子	有	160	なし	発芽なし
古田-2	7	小植物体	有	160	わずかに繁殖	枯死
	8	プロトコームとリゾーム	無	160	なし	分解・消失
	9	種子	有	160	なし	発芽なし
	10	プロトコームとリゾーム	有	105	なし	枯死
	11	プロトコームとリゾーム	無	105	なし	枯死
	12	種子	有	105	なし	枯死
古田-3	13	プロトコームとリゾーム	有	160	なし	分解・消失
	14	プロトコームとリゾーム	無	160	なし	分解・消失
	15	種子	有	160	なし	発芽なし
	16	小植物体	有	105	なし	生存・生長なし
	17	プロトコームとリゾーム	無	105	なし	枯死
	18	種子	有	105	なし	発芽なし
古田-4	19	小植物体	有	160	なし	分解・消失
	20	プロトコームとリゾーム	無	160	なし	分解・消失
	21	種子	有	160	なし	発芽なし
古田-5	22	小植物体	有	105	なし	生存・生長なし
	23	プロトコームとリゾーム	無	105	わずかに繁殖	枯死
	24	種子	有	105	わずかに繁殖	発芽なし
薬植園-1	25	プロトコームとリゾーム	有	105	やや繁殖	枯死
	26	プロトコームとリゾーム	無	105	なし	枯死
	27	種子	有	105	なし	発芽なし
薬植園-2	28	プロトコームとリゾーム	有	160	やや繁茂	枯死
	29	小植物体	無	160	なし	分解・消失
	30	種子	有	160	なし	発芽なし
薬植園-3	31	プロトコームとリゾーム	有	160	なし	分解・消失
	32	プロトコームとリゾーム	無	160	なし	分解・消失
	33	種子	有	160	なし	発芽なし
薬植園-4	34	プロトコームとリゾーム	有	105	なし	分解・消失
	35	小植物体	無	105	なし	分解・消失
	36	種子	有	105	なし	発芽なし

* 古田-1, -2, -3はそれぞれ表2における古田-1, -2, -3と同じ個所であった。

** 共生菌の添加は共生菌を繁殖させたオガ粉を共に埋設することによって行った。

(b) 種子は腐朽が進んだ古いホダ木で発芽した。シイタケ菌が繁茂して種子と密接に接しているところでは見られなかった。しかし、他の種類と思われる菌が繁茂しているところあるいはコロニーの周縁部で、ごく少数の種子が発芽していた (図6-③, ④)。腐朽が進んでいる古いホダ木に接種したプロトコームも良好な生長をしていた (図6-⑤)。

実験番号⑦ 種子島古田地区と薬草園における種子、プロトコームとリゾーム、および小植物体の埋設

2005年09月02日と10月27日に調査：2005年09月02日に古田-1 (資料番号1, 2, 3), 古田-2 (資料番号10, 11, 12), 古田-3 (資料番号16, 17, 18), 古田-5と薬草園-1, 4を、10月27日に古田-1 (資料番号4, 5, 6), 古田-2

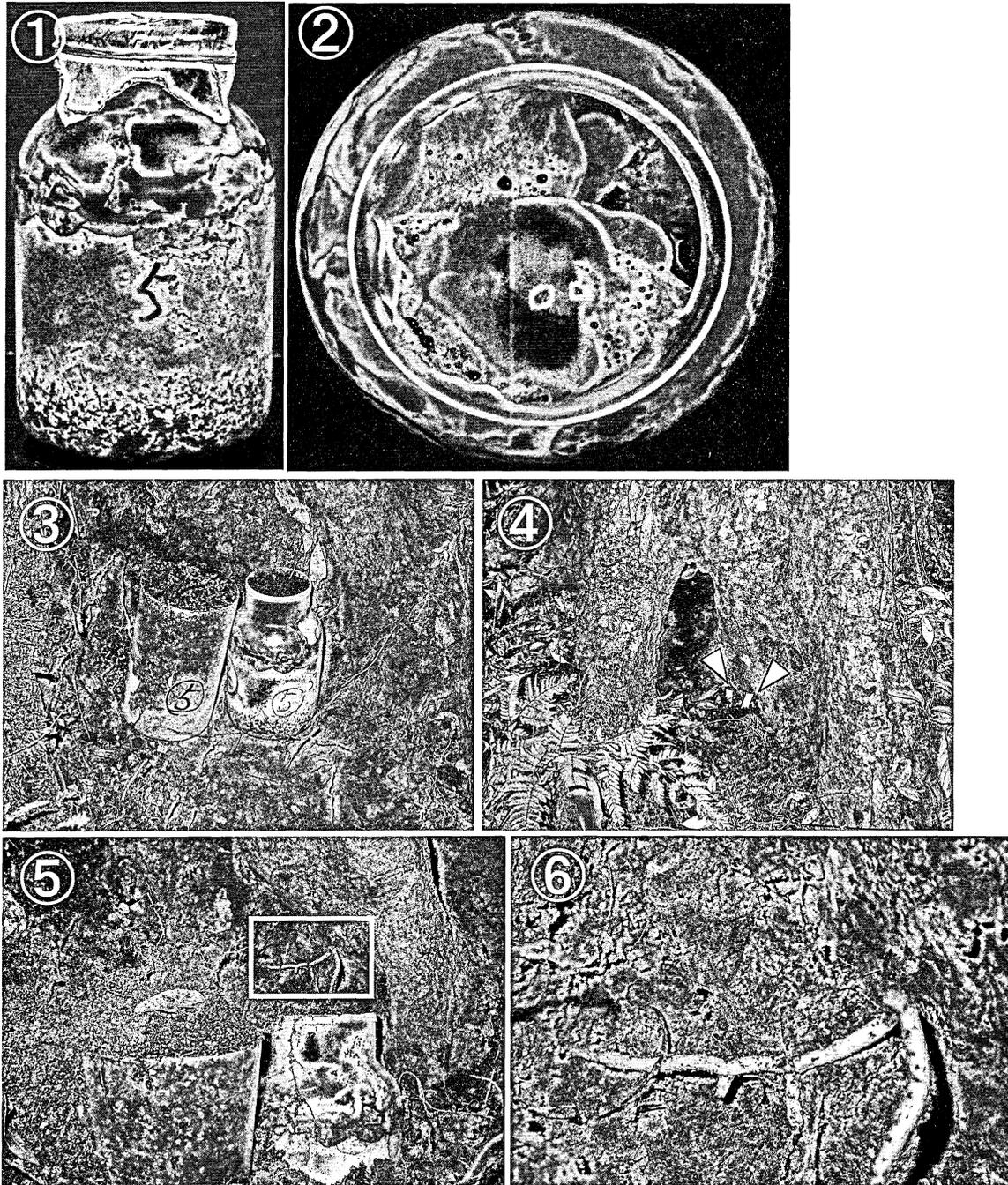


図7. タカツランの大植物体を培養器と共に野外に開設 (実験番号⑨)

①：植物体が培養されている1000mlのポット (直径9 cm)。供試材料No. 5。②：上から見たポットの内部。共生菌が覆いかぶさっている。③：1個所につき2個のポットを埋設。ポットの口には現地の森林土壌を滅菌して詰めた。No. 5だけはイスノキの根元に埋設した。④：ポットを土中に埋設して、目印のラベルを挿す。⑤：埋設98日後のタカツラン。右のポットの上部 (□内) から根が伸びている。⑥：⑤の□部を拡大。根はイスノキの根株の中に入り込み、短根を出している。

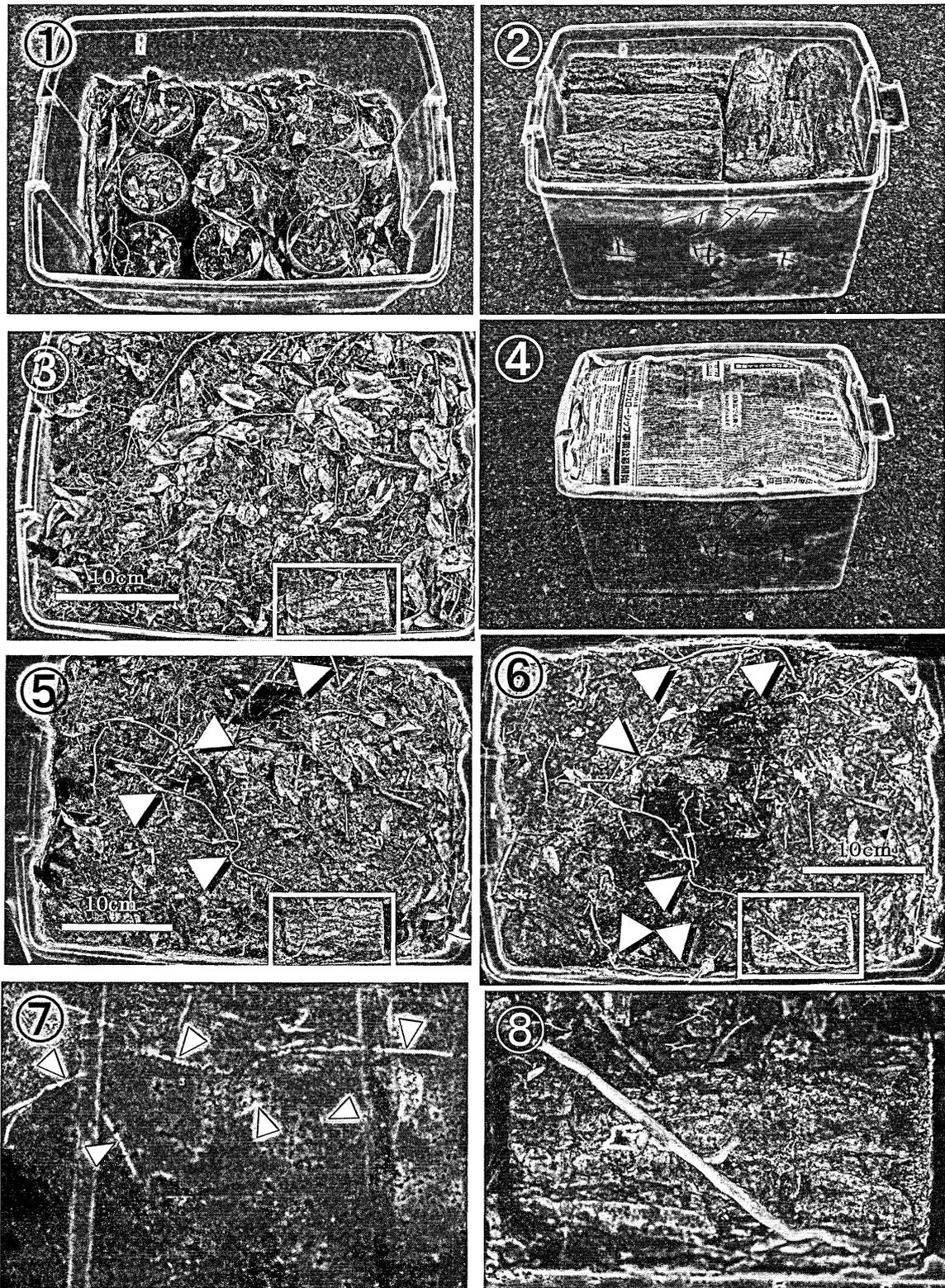


図8. タカツルランの大植物体をシイタケやオオウロコタケのホダ木と共に25℃で培養(実験番号⑩)

①～④：プラスチック製の大型容器（W31×L42×H30cm）で培養する。2006年11月17日。①：ポットの上部を切断して埋設し，腐葉土で空隙を埋める。②：シイタケのホダ木で上部を覆う。③：腐葉土で空隙を埋める。④：新聞紙を濡らして上を覆い蓋をする。⑤：埋設後126日。タカツルランの根（矢印）が表面に長く伸びている。2007年03月23日。⑥～⑧：埋設後188日。2007年05月23日。⑥：多数の長い根（矢印）が表面に見られる。一部は壁面に付着している。⑦：側面の状態。地中に発達した根（矢印）。⑧：図④の□の拡大。タカツルランの根（長根）はホダ木に付着し，長根からは短根が発生している。付着した個所は扁平となりホダ木内のシイタケ菌と共生関係を樹立していると考えられる。③，⑤，⑥の□は⑧と同一のシイタケのホダ木を示す。

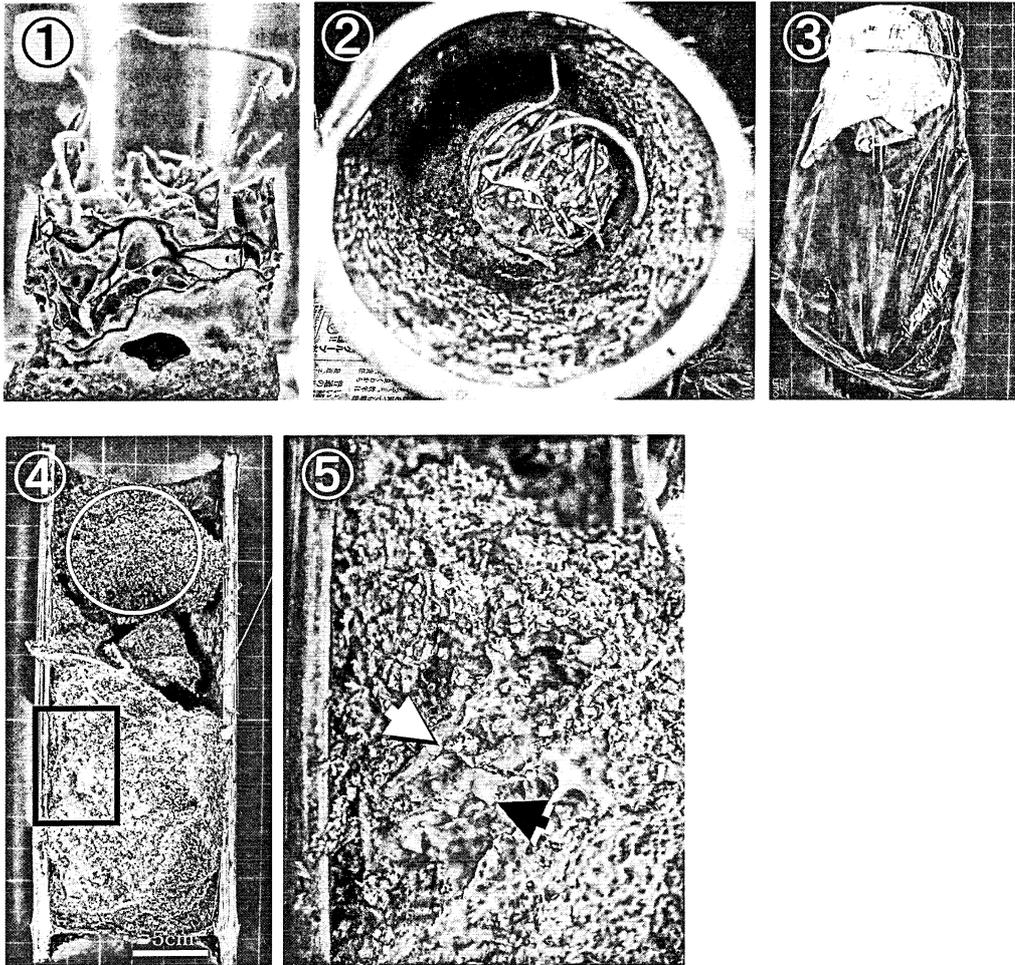


図9. 培養容器としての竹筒の利用(実験番号⑩)

①, ②: 供試植物体を竹筒(直径約10cm)に入れ, 米ぬか-オガ粉培地を詰める。③: 新聞紙で蓋をし, ビニール袋で覆い, 27.5℃で培養。④: 培養開始後62日。タカツランは生長していた。また, 雑菌(○)の繁殖が見られた。⑤: 前図④の□の拡大図。新しく成長した2本の根(矢印)があり, その中の1本(黒矢印)に短根の原基が発生している。

(資料番号7, 8, 9), 古田-3(資料番号13, 14, 15), 古田-4と薬草園-2, 3をそれぞれ調査した(表3)。表3が示すように, 埋設した植物体で生存していたのは共生菌オガ粉と共に埋設した小植物体(試料番号16と22)のみであった。しかし, 植物体に生長は無く, また共生菌の繁茂も見られなかった。

実験番号⑧ インキュベータ内で小植物体タカツラン自生地の土壌で培養

2006年2月7日調査: 植物体は土壌中の微生物の侵入を受けることなく生長していた。

実験番号⑨ 種子島古田地区における大植物体の埋設

2006年11月28日調査: 植物体は生長し, 根がポットから外部に伸びていた。伸びた根は外部の樹木の腐朽部の中に入り込み, 植物体の継続的な生長が期待された。(図7-⑤, ⑥)

実験番号⑩ インキュベータ内で大植物体をシイタケ菌およびオオウロコタケ菌のホダ木と共に培養

2007年3月23日調査: 3箱すべてに根の伸長を認めた。最も成績がよいと思われるシイタケのホダ木との埋設では, タカツランの根は表面に長く伸びていた(図8-⑤)。

2007年5月24日調査: さらに多数の根が発生していた。その内の一つはホダ木に付着し, その形状からホダ木の菌と共生を樹立しているものと判断された(図8-⑥~⑧)。

実験番号⑪ インキュベータ内で小植物体を竹筒の容器で培養

2006年02月23日調査: 植物体は竹筒の中で生長し, また, 培養基に繁茂していた共生菌も米ぬか-オガ粉培地に生長していた。しかし, 雑菌の混入が激しく, すべての竹筒が汚染していた(図9-④, ⑤)。

考 察

本研究では絶滅危惧 I A (CR) に分類されている無葉緑植物タカツラン (ラン科) を供試材料として、森林内での増殖試験を野外と室内で試みた。室内実験は野外の補完実験として行ったものである。本研究ではさまざまな方法が用いられた。表 4 はそれらの方法とその結果について時系列的にまとめたものである。本項では表 4 に基づいて (1) 共生菌の増殖資源としての可能性, (2) 移植に適する植物体の生育段階, (3) 移植時期, (4) その他の 4 項目について考察する。

(1) 増殖資材としての共生菌

タカツランにおいては、その根に内生している共生菌は木材腐朽菌で (Hamada & Nakamura 1963; Umata 1998a,b; Umata *et al* 2000), 自然下では周囲の木質物を分解し、その分解物を自身の栄養源にすると共に植物へも栄養源とし

て供給していると考えられる。したがって、共生菌は植物体が埋設された後は植物体外に菌糸を伸ばして、周囲の木質物に着生・繁殖することが可能であると考えられる。実験番号①, ②, ③は共生培養で得られた植物体のみを埋設した実験であるが、結果が示すように、共生菌がプロトコームや植物体の中に生息していたにもかかわらず、埋設した植物はことごとく腐朽・枯死した。また、共生菌も繁茂しなかった。この結果は、共生菌の栄養資材となるべき野外の木質物にはすでにさまざまな菌類が生息していたため、新参者である共生菌はそれら野外の菌類との間の競合で繁殖することが出来なかった可能性を示唆している。

実験番号④と⑤は、ブナのオガ粉を滅菌して (以降、滅菌済みオガ粉)、共生菌のための栄養資材として植物体と共に埋設した実験である。④の結果が示すように、野外に埋設した植物体はことごとく腐朽・枯死し、共生菌も繁茂しなかった。しかし、⑤が示すように室内で培養するとタ

表 4. タカツランの共生菌の有無, 埋設時の植物体の生長段階, そして埋設の時期が埋設後の共生菌の菌糸の生長と植物体の生長に与える効果

実験番号	埋設日 (調査日)	共生菌の有無と埋設方法	埋設したタカツランの生長段階	培養条件 埋設箇所*	埋設期間 (日)	菌糸生長	タカツランの生長**
①	2003.10.15 (2004.10.14)	(無) 植物体のみを埋設	リゾーム	野外 古田	365	なし	×
②	2004.02.12 (2004.10.06)	(無) 植物体のみを埋設	リゾーム	野外 沖縄	237	なし	×
③	2004.03.18 (2004.10.13)	(無) 植物体のみを埋設	リゾーム	野外 薬草園	209	なし	×
④	2004.10.13 (2005.05.20)	(無) 滅菌済みオガ粉と埋設	プロトコームと幼植物体	野外 古田と 薬草園	219	なし	×
⑤	2004.12.25 (2005.05.23)	(無) 滅菌済みオガ粉と埋設	リゾーム	室温	149	繁茂	○
⑥	2004.12.25 (2005.05.25)	(有) シイタケの腐朽が進んだホダ木に接種	種子とプロトコーム	27.5℃ (インキュベータ)	151	繁茂	○
⑦	2005.05.20 (2005.09.10) (2005.10.27)	(有) 共生菌オガ粉と埋設	種子, プロトコーム ~リゾーム, 小植物体の 3 群	野外 古田と 薬草園	113 160	わずか	小植物体のみが△
⑧	2005.12.13 (2006.02.07)	(有) 共生菌オガ粉と埋設	小植物体	室温	56	繁茂	○
⑨	2006.08.22 (2006.11.28)	(有) 共生菌オガ粉と埋設	大植物体	野外 古田	98	繁茂	○
⑩	2006.11.17 (2007.03.23) (2007.05.24)	(有) 共生菌オガ粉とシイタケやオオウロコタケのホダ木と埋設	大植物体	25℃ (インキュベータ)	126 188	繁茂 繁茂	○ ○
⑪	2006.12.23 (2007.02.23)	(有) 竹筒に共生菌オガ粉と埋設	小植物体	27.5℃ (インキュベータ)	62	繁茂	○

* 古田; 鹿児島県西之表市古田 沖縄; 沖縄県名護市南明治山 薬草園; 鹿児島県熊毛郡中種子町薬用植物資源研究センター

** ○; 植物体の継続的生長 △; 生存はしているが生長なし ×; 枯死

カツランは生長し、また、オガ粉は白化していた。オガ粉の白化の原因は、オガ粉が共生菌によって資化されたことによるものと考えられる（供試菌R204は白色腐朽菌であることが明らかにされている（馬田、未発表）。このことから、野外埋設のタカツランが生長できなかったのは、共生菌が外部に出て繁殖できなかったことにあると考えられる。野外埋設の共生菌が外部に繁茂出来なかった原因については今後の課題であるが、温度・湿度条件の他に、植物体内の共生菌の菌体量などの観点からの研究も必要であると考えられる。

実験番号⑥～⑫は植物体を共生菌が繁茂しているオガ粉（以降、共生菌オガ粉）と共に埋設した実験である。これらの実験では、図9、11、12と表4が示すようにタカツランは継続的な生長を示した。

以上①から⑫までの実験の結果から、移植されたタカツランが継続的に生長をするためには、植物体内に共生菌が生息している場合にしろ、あるいは共生菌オガ粉として添加された場合にしろ、共生菌が栄養資材上で繁茂している必要があり、共生菌はタカツランの野外増殖に必要な不可欠であると結論づけられる。

津田ら（2004）によれば、無葉緑ランの一種シナノショウキラン（*Yoania flava* Inoue et Yukawa）の発生地への埋め戻し試験では、無菌培養で得たリゾームは埋め戻し50日後には消滅していた。一方、共生菌との培養によって得たリゾームは、共生菌が繁茂している培養基の添加は無かったが、50日後ではすべてが生存し、埋め戻し開始490日後にも少数だが生存・定着していた。また、無葉緑ランの一種オニノヤガラ（*Gastrodia elata* Bl.）の塊茎（天麻と称して漢方薬の生薬に使用される）の栽培でも、共生菌であるナラタケ菌のホダ木の栽培床をつくり、そこに小さな塊茎を埋めて生長させ、商品にしている（雲南省昭通地区科学技術委員会 1977）。これらのことは、無葉緑ランを野外で継続的に生長・増殖させるには、無葉緑ランの栄養資材である共生菌も同時に継続的に生長していることが不可欠であることを示している。

(2) 移植に適する植物体の生長段階

移植に用いたタカツランは埋設時の生長段階に応じて種子、プロトコーム、リゾーム、小植物体、大植物体に区分した。

種子が播種によって発芽したのはシイタケのホダ木に接種して25℃で培養した場合のみであった（実験番号⑥）。また、同時に接種したプロトコームも良好な生長を示した。この結果は、接種した培養基に共生菌が繁茂し、温度条件が25℃のように適温であれば、移植する植物体の生長段階は影響しないことを示している。しかし、発芽には151日

間を要した。野外ではこの間に気象条件は大きく変化するので、種子の発芽とその後の生長にとって常に好適な条件が維持される保障は無い。例えば、タカツラン種子とシイタケ菌とを試験管内で培養すると、種子は培養温度が20℃だと発芽しないが、25℃では60日後に3.3%が発芽し、90日後の発芽率は4.3～15.2%に上昇した。30℃で培養すると30日後にすでに54.3～60.2%に達した（Umata, 1998）。このように、発芽に要する時間と発芽率は温度条件によって大きな影響を受ける。一般に野外播種された種子の発芽率は低くしかも不安定であると考えられ、この方法は多量の種子を必要とする。絶滅が危惧されるタカツランのような種においては、野外播種による増殖法は適切でないと判断される。

タカツランをプロトコームとリゾームとの混合区、および小植物体に分けて野外に埋設した時、生存していたのは共生菌オガ粉と共に埋設したタカツラン小植物体のみであった（実験番号⑦）。しかし、植物体の生長は無く、また共生菌の生長は微々たるものであった。これらの結果は、野外では埋設植物体が生存・生長していくためには、生長段階が進んだ植物体を共生菌オガ粉と共に埋設すること、さらに、共生菌が植物体に栄養を供給できるほど十分に生長し繁茂させること、などが重要であることを示唆している。

以上のような要件を満たすように培養を継続して大植物体にして埋設すると（実験番号⑧、⑨、⑩）、植物体は継続的な生長をし、野外の樹木の根株の腐朽部に侵入して短根を形成して、根株内の腐朽菌と新たな共生関係を成立したことが示唆された（図7-⑥）。また、1,000mlのポットで十分に生育させた大植物体を大型の容器内で（W31×L42×H30cm）シイタケ菌やオオウロコタケ菌のホダ木と共に培養しても（実験番号⑪、⑫）、タカツランは旺盛な生長をし、伸張した根はホダ木に附着して短根を形成し、ホダ木内の菌類と新たな共生関係を成立させていることが示唆された（図8-⑧）。

これらのことから、タカツランの移植を成功させるためには（i）生長段階が進んでいる植物体を（ii）共生菌が繁茂しているオガ粉と共に（iii）共生菌が埋設後も十分に生育・繁茂出来るような条件にするのが重要であると考えられる。植物体と共生菌と培養基（オガ粉）とをセットにして容器に入れて埋設し、しかも、埋設してから一定期間は外部からの干渉を防ぐようにすると、成功はより確実になるものと思われる。

(3) 移植の時期

移植の時期については表4からは以下のようなことが示される。8月に野外に埋設したタカツランは継続的な生

表5. 鹿児島県種子島西之表市における2003~2006年の月毎平均気温と平均降水量

月	平均気温 (°C)	平均降水量 (mm)
1	11.3	89.0
2	12.7	119.4
3	13.8	145.1
4	18.2	123.6
5	21.7	261.8
6	24.0	490.5
7	28.0	123.0
8	28.2	211.5
9	26.5	191.5
10	22.5	262.2
11	19.2	161.6
12	13.7	100.9

長をした。一方、2月、3月、10月に埋設すると植物の生長も共生菌の生長も認められず、植物体は腐朽・枯死していた。しかし、11月、12月の埋設でも25℃または27.5℃のインキュベータ内や室内で培養すると、タカツランは継続的な生長を示した。これらのことは、共生菌の生長と繁茂にとって培養期間中の温度条件が適している時に、タカツランは継続的な生長をすることを示唆している。

表5に種子島の年間平均気温と降水量を示す。種子島の場合、タカツランの野外移植の時期は、共生菌と植物体の両者の生長に適する温度が高く降水量が多い6月と8月~9月が適していると考えられる。

なお、湿度条件に関しては、試験管内は高湿度なので培養された植物体の表皮は未発達で気孔も十分に機能しない。そのため、地生ランの野外順化においては徐々に乾燥に慣れさせていくための工夫が試みられている (Rosetto et al, 1992)。タカツランにおいては植物体全体を地中に埋設するため土中湿度は測定しなかったが、5月の埋設 (実験番号⑦) で生長できなかった要因の一つとして湿度条件が充分でなかったことが考えられるので、今後は湿度条件についても調査が必要である。また、多くのラン、とりわけ北半球の温帯域のランの移植時期は春化处理を受けることが重要であるために休眠期に行われることが多いが (Margaret & Dixon, 2003)、タカツランは、鹿児島県の種子島と屋久島を分布北限とする熱帯性のランのため、低温要求性については考慮しなかった。

(4) その他

植物体を野外に埋設したとき、植物体は土壌中のさまざまな微生物によって感染され被害を受けることが予想された。しかし、無処理の野外土壌が植物体に与える影響を室内で調べたところ、植物体は健全な生長を示した (実験番号⑧)。このことから、野外埋設の植物体の枯死の原因とし

て、野外の菌ではなく共生菌が繁茂出来なかったことが強く示唆される。また、腐朽も内生していた共生菌による可能性が否定できない。

野外埋設した微生物分解が容易な天然素材のポットは短期間で分解され、埋設した植物体は枯死・分解していた (実験番号⑦)。このことから、埋設に用いる容器には移植されたタカツランが外部に向かって生長できる期間もしくは共生菌が十分に繁茂出来る期間は耐性がある容器が必要であると考えられる。そのために竹筒の容器としての利用はその可能性があると考えられる (実験番号⑩)。

おわりに

本研究により、自生地においてキノコと共生関係を持つタカツランの人工増殖には栄養資材であるキノコの利用が有用であり、また埋設時に共存させることによりその後の共生が誘導されるために必須であることも示された。この結果は他の無葉緑ランのみならず、ラン科植物以外の菌根植物にも適用可能であると考えられる。今後はその普遍化を図るために、植物と共生菌との試験管内での培養系の確立、共生するキノコの選別、増殖の鍵となる共生菌の野外における繁殖技術の確立などに関する研究が必要である。なお、共生菌の種の違いによる人工増殖に関する適否の評価は、タカツランの種子入手が困難であったため今後の課題となった。

謝 辞

本研究を行うにあたり、種子島薬用植物資源研究センターの香月茂樹氏 (元センター長) と鍋木紘一氏には同センターのシイ林利用の快諾と協力をいただき、さらに種子島のタカツランについても貴重な助言をいただいた。また、沖縄県林業試験場には南明治山の利用の快諾をいただいた。ここに記して感謝します。なお、本研究の一部は平成17年~18年度文部科学省科学研究費補助金 (基盤研究C, No.17580128) により行われたものである。

文 献

- Arditti J (1991) ランの生物学 (市橋正一訳). 誠文堂新光社, 東京.
- Darwin C (1862) The various contrivances by which orchids are fertilized by insects. John Murray, London.
- Hamada M, Nakamura SI (1963) Wurzelsymbiose von *Galeola altissima* Reichb. f., Einer chlorophyllfreien Orchidee, mit dem Holzerstorenden Pilz *Hymenochaete crocicreas* Berk. et

- Br. Sci.Rep.Tohoku Univ. Ser. 4 (Biol.) 29: 227-238.
- 井上民二, 和田栄太郎, 簗浦幸治 (1998): 生物多様性と
その保全. 岩波書店
- 環境庁自然保護局野生生物課 (編) (2000) 改訂・日本の
絶滅のおそれのある野生生物-レッドデータブック-
植物 I (維管束植物)
- 鹿児島県環境生活部環境保護課 (編) (2003) 鹿児島県の
絶滅のおそれのある野生動植物-植物編.
- Leake JR (1994) The biology of myco-heterotrophic ('sapro-
phytic') plants. *New Phytol.* 127: 171-216.
- 牧野富太郎・根元宗爾 (1931) 日本植物総覧. 春陽堂
- Margarett MR, Dixon KW (2003) Propagation science, recov-
ery and translocation of terrestrial orchids. In: *Orchid conser-
vation.* (eds Dixon KW, Kell SP, Barret RL, Cribb PJ).
pp.259-288. Natural History Publications, Kota Kinabalu,
Sabah.
- 森寛一・浜屋悦次・下村徹・池上擁春 (1969) 組織培養法
によるウイルス羅病植物の無毒化. *農事試研報* 13: 45-
110.
- Rasmussen HN (1995) Terrestrial orchids from seed to
mycotrophic plant. Cambridge University Press, London.
- Rosetto M, Dixon KW, Bunn E (1992) Aeration: a simple
method to control vitrification and improve in vitro culture of
rare Australian plants. *In Vitro Cellular and Developmental
Biology* 28P: 192-196.
- 里見信生 (1982) ラン科 (日本の野生植物 I. 佐竹義輔・
大井次三郎・北村四郎・亘理俊次・富成忠夫 編, 平凡
社, 東京). pp.187.
- Smith SE, Read DJ (1996) *Mycorrhizal symbiosis*, 2nd ed.
Academic Press, London.
- 津田その子・守谷栄樹・原田幸雄・富田正徳 (2004) シナ
ノショウキランの人工増殖と新種共生菌について. *名古屋
国際蘭会議2004*: 36-40.
- Tsujita YO (2006) Mycorrhizal association in *Cymbidium
macrorhizon*. In: *Proceedings of the 2nd International
Symposium on Diversity and Conservation of Asian Orchids.*
- 馬田英隆・金谷整一・森健. (1994) 無葉緑植物タカツ
ランの棲息場所と生息状況. *植物分類, 地理* 45(2):
101-106.
- Umata H (1998) A new biological function of Shiitake mush-
room, *Lentinula edodes*, in a myco-heterotrophic orchid,
Erythrorchis ochobiensis. *Mycoscience* 39: 85-88
- Umata H (1998) Symbiotic association of an achlorophyllous
orchid, *Erythrorchis ochobiensis*, with orchid and non-orchid
fungi in vitro. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.* 34: 97-107.
- Umata H, Fujimoto H, Arai K (2000) Species richness of the
symbiont in *Erythrorchis ochobiensis*, an achlorophyllous or-
chid. In: *Proceedings of the 7th International Symposium on
Fungus-Plant Interactions from Parasitism to Symbiosis.* (ed
The Organizing Committee of the 7th International
Symposium of the Mycological Society of Japan). pp 52-56.
The Mycological Society of Japan.
- 雲南省昭通地区科学技術委員会 (1977) 天麻的人工栽培,
pp1-57. 雲南人民出版社, 雲南.
- Warcup JH, Talbot PHB (1967) Perfect states of Rhizoctonias
associated with orchids. *New Phytol.* 66: 631-641.
- Yokoyama J, Fukuda T, Nukatsuka Y (2006) Molecular identi-
fications of endomycorrhizal fungi inhabiting in
Cephalanthera spp. (Orchidaceae). In: *Proceedings of the
2nd International Symposium on Diversity and Conservation of
Asian Orchids.*

要 旨

世界的な森林の攪乱と劣化は森林植物に深刻な影響を与えつつある。例えば、少なからずの森林植物の絶滅が危惧され、中には絶滅してしまった種もある。本研究の目的はそれら植物の野外での保全のための基礎情報を得ることにある。本研究では、ラン科植物のタカツルランを事例として研究した。タカツルランは広葉樹林の中でもとりわけシイ林に生息し、わが国では森林伐採や土地造成により絶滅の危惧が極めて高い種に分類されている。タカツルランは木材腐朽菌（担子菌類）を根の中に内生させて菌根共生を結んでいる。このランは光合成能力を喪失しているため、一生を通して共生菌に炭素源を依存しさらに種子の発芽にも共生菌を必要とする。これらのことは、共生菌がタカツルランの増殖に有用なツールとなり得ることを示唆している。

供試植物は次のようにして得た。最初に、タカツルランの根から共生菌を分離した。次いで、共生菌とタカツルランの種子との共生培養を試験管内で行い、プロトコームから根・鱗片葉を分化した植物体まで至るさまざまな生長段階の植物体を得た。

タカツルラン増殖の試みは植物体を土中に移植することによって行った。埋設は植物体のみまたは共生菌が生育している培養基と共に行い、共生菌の添加の有効性、移植に適する植物の生長段階と時期、その他について調べた。

次のような結果を得た。(1) 移植した植物体は、共生菌が繁殖している培養基と共に埋設すると生長した。共生菌が繁殖していない培養基では植物体は枯死していた。(2) 移植用の植物体は根・莖が十分に生長した植物体を用いるのが良かった。(3) 移植に適する時期は共生菌と植物体の生長に適した温度が高く降水量が豊富な時期が良かった。タカツルランの分布北限域である鹿児島県の種子島では6月、8月、9月が適していると思われる。(4) 外部へ根を伸長させた植物体は、外部のキノコが親和的な種であればそのキノコと新たに共生関係を築いた。