

令和 5 年 5 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2022

課題番号：19K23762

研究課題名（和文）イチヤクソウ亜科で生じた菌従属栄養性進化の定量的な追跡

研究課題名（英文）Quantitative tracking for the mycoheterotrophic evolution in Pyroleae

研究代表者

首藤 光太郎（Shutoh, Kohtaroh）

北海道大学・総合博物館・助教

研究者番号：60803723

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：国内に分布するイチヤクソウ亜科を探索する過程で、イチヤクソウの白化集団を発見した。菌従属栄養植物の白化集団をラン科以外の被子植物から初めて報告した。次に、標本調査の過程でヒトツバイヤクソウのレクトタイプに、イチヤクソウの個体が含まれることが明らかになった。命名規約に基づきこの個体を除外してレクトタイプの再選定を行うことが望ましい。合計9種30集団で現地調査を行い、形態調査やサンプリングは実施することができたが、新型コロナウイルス感染拡大の影響により研究計画に遅れが生じ安定同位体比分析ができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イチヤクソウ亜科で生じた菌従属栄養性進化を、葉のサイズを利用して定量的に追跡した。菌従属栄養植物は、近縁な緑葉植物と比較して特殊な生態や形態を示すことから進化過程の追跡が難しい植物群とされる。またラン科とは遠縁であるツツジ科で白化個体を発見できたことにより、これまでラン科を用いて得られてきた知見と比較することが可能になった。ラン科の白化個体は、菌従属栄養植物の進化過程を研究する材料としてしばしば活用されてきた。付随して、絶滅危惧種に指定されているイチヤクソウ亜科の分布/生育情報を収集することができた。

研究成果の概要（英文）：In the process of searching for populations of Pyroleae in Japan, I discovered a population including albino mutants of *Pyrola japonica*. The albino mutants were reported first time from partially mycoheterotrophic species in angiosperms other than orchids. Next, in the process of herbarium specimen surveys, I found that the lectotype of *P. subaphylla* is a mixed gathering that comprises three plants of *P. subaphylla* and one of *P. japonica*. It is desirable to re-designate the lectotype to exclude the *P. japonica* individual. Although I conducted field surveys in a total of 30 populations of 9 species mainly in eastern Japan and collected morphological data and samples for stable isotope analysis, I could not conducted stable isotope analysis because due to the delay of the research plan by the COVID-19 pandemic.

研究分野：植物分類・系統学

キーワード：イチヤクソウ 菌従属栄養植物 進化 分類 アルビノ

1. 研究開始当初の背景

完全菌従属栄養植物は、植物でありながら光合成能を持たず、菌根菌からの有機物に依存して生活する植物である。光合成を行わないために特殊化した生態や形態をもち、陸上植物の中で 40 回以上にわたり独立に進化したとされる。しかしこれらの多くは、最も近縁な菌への依存と光合成の両方を行う部分的菌栄養植物とでさえ、系統的にかけ離れており、両者の比較から光合成の喪失過程を追跡するのが困難である。

ツツジ科のイチヤクソウ亜科(図1)は、葉を持つ種と、葉を持たず完全菌従属栄養と推定される種の間で葉のサイズの連続的な変化が観察される。このため、菌従属栄養性の進化を詳細なスケールで追跡するのに適した分類群である。このような進化は、同亜科内のイチヤクソウ種複合体および *Pyrola picta* 種複合体の 2 系統で生じたことが知られており、どちらも葉を持つ種と持たない種の間には葉以外の形態に差異がほとんど見られない。この特徴は、部分的菌従属栄養植物と完全菌従属栄養植物の間の形態や生態の比較をより簡便にし、この比較から得られた知見を、さらに系統間で比較することを可能にする。



図 1. イチヤクソウ亜科 (ジンヨウイチヤクソウ)

2. 研究の目的

イチヤクソウ亜科を用いて、菌従属栄養植物の進化を定量的に追跡することを研究開始当初の目的として設定した。同亜科には、部分的～ほぼ完全菌従属栄養種のほか、成熟体がほぼ独立栄養を行う種も存在することが、安定同位体比分析から指摘されていた。国内には、系統樹上に偏りなく分布する 12 種が認められている。これらの種の菌への依存度を形態(葉サイズの変異)および安定同位体比から定量的に評価し、系統樹上に配置することで、同亜科で生じた菌従属栄養性の進化を追跡することができると考えた。

3. 研究の方法

国内に分布する 12 種のイチヤクソウ亜科を対象に、各種 2～3 集団で現地調査を行うこととした。これらの集団は、国内の植物標本庫に収蔵された標本を対象とした調査、文献、研究者や植物愛好家への聞き取りに基づいて探索した。それぞれの集団で、イチヤクソウ亜科およそ 30 株程度を上限とし、葉のサイズ等をはじめとした形態を計測した。また、対象とした集団の数個体の葉および繁殖器官と、その周囲に生育する独立栄養植物および完全菌従属栄養植物の葉または繁殖器官を、安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$) 分析のためにサンプリングした。

4. 研究成果

(1) イチヤクソウの白化(アルビノ)集団の発見

同亜科の集団探索の過程で、イチヤクソウ *P. japonica* Klenze ex Alef. の白化(アルビノ)集団を発見することができた(図2)。部分的菌従属栄養植物には、稀に白化個体が生じることが知られてきた。このような個体は葉緑素を失っているため光合成をすることができないが、菌従属栄養の能力により成長し、時には開花・結実に至ることが可能である。白化個体は完全菌従属栄養状態にありながら部分的菌従属栄養植物とほぼ同じ遺伝的背景をもつため両状態間の比較に適しており、菌従属栄養植物の進化過程を研究する材料としてしばしば活用されてきた。しかし、このような個体の発生は、これまでラン科でのみ知られていた。従って、上記のような研究はラン科を中心に行われてきた。ラン科とは遠縁であるツツジ科で白化個体が発見できたことにより、これまでラン科を用いて得られてきた知見と比較することが可能になる。また、この個体の安定同位体比を測定することにより、同亜科における完全菌従属栄養状態の参照値を得ることができる。

上記の安定同位体比の計測・葉のサイズ測定に加え、葉緑素量とクロロフィル蛍光を計測しそれぞれ 0 または計測器の検出限界値未満を示したことから、発見した個体を白化個体と結論した。また、白化に伴い同属内の重要な形質である葉のサイズが変化している可能性があったため、葉緑体 DNA の塩基配列情報をもとに同個体をイチヤクソウと同定した。以上により、イチヤクソウの白化個体を、ラン科以外の被子植物から初めて報告することとなった。



図 2. 発見したイチヤクソウの白化個体

また、周囲の緑葉をもつイチヤクソウと形態を比較した結果、白化個体はより花が少なく、小型の葉をもち、花茎が短い傾向が検出され、白化個体となったことで栄養不足に陥り小型化した可能性を示唆することができた。白化個体の葉および花の $\delta^{13}\text{C}$ は、周囲の独立栄養植物および緑葉をもつイチヤクソウよりも高く、同種および同属における完全菌従属栄養状態の参照値となった（図 3）。また、緑葉をもつイチヤクソウでは葉と花の数値が有意に異なっていたものの、白化した個体ではこのような傾向が見られず、光合成を行うための機能の分化が白化個体では生じていない可能性も示唆することができた。一連の研究成果は、アメリカ植物学会が出版する国際誌 *American Journal of Botany* 誌に掲載された。また、本研究で引用した白化個体の証拠標本を、書籍『北大総合博物館のすごい標本（北海道新聞社刊）』に掲載した。

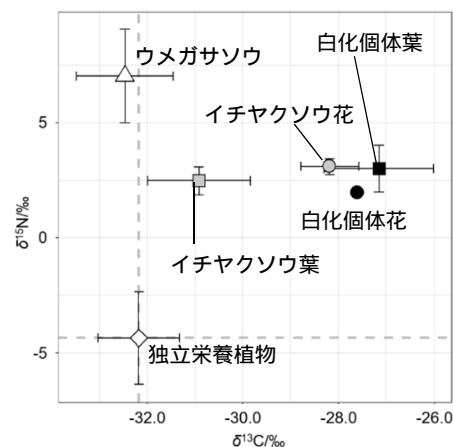


図 3. 発見した白化個体と周辺に生育する植物の安定同位体比 ^{13}C 及び ^{15}N (Shutoh et al. 2020 を転載)

(2) ヒトツバイチヤクソウのレクトタイプ再選定

本課題は、新型コロナウイルス感染拡大の影響により遠距離の出張が難しくなったため、植物標本庫に収蔵されている標本や、北海道内の集団を重点的に利用して進めることとなった。この過程でヒトツバイチヤクソウ *P. subaphylla* Maxim. のタイプ標本 7 枚の葉のサイズを計測していたところ、ロシア・コマロフ植物学研究所 (LE) に収蔵されているレクトタイプ（発表文で 1 点の標本が指定されなかった場合またはこの標本が失われた際に著者が研究に使用した資料の中から後年選定されたタイプ標本）に、近縁なイチヤクソウの個体が含まれることが明らかになった。このため、命名規約に基づきこの個体を除外してレクトタイプの再選定を行うことが望ましいことが明らかになった。鱗片葉または小型の葉のみを有しほぼ完全菌従属栄養植物を営むヒトツバイチヤクソウと、通常の葉をもち部分的菌従属栄養を営むイチヤクソウは極めて近縁な関係にあり、両者の標本は葉のサイズでのみ識別が可能である (Shutoh et al. 2017)。両者の分類をより明確にしておくことは、イチヤクソウ亜科における菌従属栄養性の進化を考察する上で重要である。

上記に付随して、レクトタイプの採集地である函館周辺の地名 “Sigi-nope” の所在を明らかにした。この採集地は長らく不明であったが、学名の発表者でレクトタイプの採集者でもある C. J. Maximowicz の当時の旅程や T. W. Blakiston の著書 “Japan in Yezo” (1883 年出版) の記述などから、現在の茅部郡森町に昭和 14 年まで住所が存在した宿野辺村が、大沼の流入河川である宿野辺川であると結論した。一連の研究成果は現在学術雑誌に投稿中である。

(3) 現地調査の結果

最終的に、東日本を中心とした合計 9 種 30 集団で現地調査を行った。ただし、これらの中には株数が十分でなく十分なサンプリングができなかった集団も含まれる。また、時間等の都合により簡素な調査にとどまっており、後日追加の調査を行う必要がある集団もある。研究成果を公表するにあたり、どの程度の集団のデータを採用できるか今後検討し、必要に応じて追加の現地調査を行う必要がある。また、研究開始時点では 12 種を対象としていたが、マルバノイチヤクソウ *P. nephrophylla* (Andres) Andres, エゾイチヤクソウ *P. minor* L., イチゲイチヤクソウ *Moneses uniflora* (L.) A. Gray の 3 種の集団では現地調査を行うことができなかった。上記のとおり本研究課題は新型コロナウイルス感染拡大の影響で北海道内を中心に現地調査を行うこととなったが、この 3 種はいずれも北海道内あるいは全国レベルでの希少種である。マルバノイチヤクソウについては追加の調査が必要であるものの、残りの 2 種については今後探索は継続するものの、必ずしも現地調査を実施する必要はないものと考えている。

形態調査に基づき、イチヤクソウ亜科の種間で、集団内における通常葉をもたない開花株の有無や、1 株がもつ葉サイズの変異幅などに違いがあることが明らかになった。これらを既存の系統樹上に配置したところ、菌従属栄養性を高める系統と関係があることが推定された。この研究成果については、今後投稿論文を執筆する予定である。

一方で、新型コロナウイルス感染拡大により全国的な現地調査が満足に実施できなかったこと、この過程で上記のような新たな課題が見出され取り組んだことが影響し、当初の研究計画に大幅な遅れが生じた。この結果安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) の数値に基づく定量的な追跡は本課題の期間中に結果を示すことができなかった。ただし測定に用いるサンプルは十分収集することができたため、期間終了後に取り組む予定である。

(4) その他

これまでの研究成果で発見されたイチヤクソウ種複合体の 2 集団で集団の動態を経年的に観察し、イチヤクソウとヒトツバイチヤクソウの生活史を比較した共著報文の原稿が、現在学術雑

誌に投稿中である。

引用文献

Shutoh K, Kaneko S, Kurosawa T. 2017. Taxonomy and distribution of *Pyrola subaphylla* Maxim. (Pyroleae, Ericaceae). Acta Phytotaxon. Geobot. 68(3): 181–192.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Suetsugu Kenji, Matsuoka Shunsuke, Shutoh Kohtaroh, Okada Hidehito, Taketomi Shintaro, Onimaru Kaede, Tanabe Akifumi S., Yamanaka Hiroki	4. 巻 31
2. 論文標題 Mycorrhizal communities of two closely related species, <i>Pyrola subaphylla</i> and <i>P. japonica</i> , with contrasting degrees of mycoheterotrophy in a sympatric habitat	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mycorrhiza	6. 最初と最後の頁 219 ~ 229
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00572-020-01002-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shutoh K, Tajima Y, Matsubayashi J, Tayasu I, Kato S, Shiga T, and Suetsugu K	4. 巻 107
2. 論文標題 Evidence for newly discovered albino mutants in a pyroloid: implication for the nutritional mode in the genus <i>Pyrola</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Botany	6. 最初と最後の頁 650-657
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ajb2.1462	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 大西亘, 首藤光太郎, 城川四郎	4. 巻 87
2. 論文標題 神奈川県内のベニバナ !? イチャクソウ	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FLORA KANAGAWA	6. 最初と最後の頁 1027-1028
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 首藤光太郎, 田島裕子, 松林順, 陀安一郎, 末次健司
2. 発表標題 イチャクソウ（ツツジ科）のアルビノの発見とその研究的価値
3. 学会等名 東北植物学会第11回大会公開シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 首藤光太郎, 田島裕子, 松林順, 陀安一郎, 末次健司
2. 発表標題 ラン科以外の種子植物から初めて発見された部分的菌従属栄養植物のアルビノ個体
3. 学会等名 日本植物分類学会第19回大会 (新型コロナウイルス感染拡大防止のため中止)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 阿部剛史, 江田真毅, 大原昌宏, 柁原宏, 小林孝人, 小林快次, 首藤光太郎, 田城文人, 西村智弘, 山下俊介, 山本順司, 湯浅万紀子	4. 発行年 2020年
2. 出版社 北海道新聞社	5. 総ページ数 239
3. 書名 北大総合博物館のすごい標本	

〔産業財産権〕

〔その他〕

イチヤクソウのアルビノを札幌で発見 ラン科以外の被子植物で初 (日本の研究.com) https://research-er.jp/articles/view/88242

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------