

## レブンアツモリソウの保全生物学

河原 孝行、山下 直子\*

## はじめに

我が国には約 7000 種の維管束植物（変種以上のもの）が知られていますが、そのうちの 24%にあたる 1665 種の絶滅が危惧されています<sup>3)</sup>。この絶滅危惧植物をまとめた本はレッドデータブック（環境省版）と呼ばれています。1989 年に自然保護協会より初版のレッドデータブックが発刊された時には 824 種が指定されていたのに比べ、絶滅危惧種は格段に増えており、生物多様性存続の危機にさらされているといえます。

レッドデータブックによれば、主な減少要因は園芸用採取が群を抜いて多く、自然遷移・森林伐採と続きます。ラン、ツツジなど栽培人気の高い植物では、園芸用採取が主減少要因となっています。

一方で、「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律」が 1993（平 5）年 4 月 1 日から施行されています。この法律は絶滅危惧種の商取引を制限して国際的な取り組みに対応する一方、国内においては種そのものだけでなく、種が生息する環境や生態系を含めて保護していくことを定めたものです。この中では国内野生希少動植物種が定められ、保護増殖が図られています。また、さらにこの中には、特定国内野生動植物種が

定められており、4 種 2 変種が指定されています。この指定は、従来の囲い込み型の保全から、積極的に人工増殖し、園芸市場に流通させることによって、野生集団からの盗掘圧を減少させることを意図しており、新たな保全方法として概念的価値が認められます。しかし、その特性を活かした保全の実践法はこれまでほとんど検討されてきませんでした。

私たちは、国内特定希少動植物種に指定されているレブンアツモリソウをモデルとして、国内特定希少動植物種の保全にあたっての増殖法、野生個体群の保全法、また、販売を含む保全に関して合意形成を行なう方法を検討し、これらを統合した保全対策の指針を作ることを目的として環境省地球環境局の援助を受けて、レブンアツモリソウ保全研究プロジェクトを行っています。ここでは私たちが行っている研究の一端をご紹介します。

## レブンアツモリソウとは

レブンアツモリソウ *Cypripedium macranthos* Sw. var. *rebunense* Tatew. は、分類学上アツモリソウの変種とされています。アツモリソウは普通紫紅色ですが、レブンアツモリソウは花がクリーム色で、中には白色に見えるものもあります。アツモ

\*：現・関西支所



### 写真 礼文島鉄府保護区に見られるアツモリソウ類

レブンアツモリソウ（左）、推定雑種（中）、カラフトアツモリソウ（右）

リソウ属のモノグラフ(特定の分類群について詳細に解説した総説)を書いた Cribb<sup>1)</sup> はアツモリソウの変異の一部とみなし、変種として認めていません。レブンアツモリソウは礼文島のみで自生していますが、これほど多くのクリームまたは白色の花が生育している場所は他にありません。これまで他の国内の自生地や極東ロシアのウラジオストック周辺・サハリンのアツモリソウについて調べましたが、これほど多くの白色系の花は見られませんでした。

#### レブンアツモリソウの人工増殖

レブンアツモリソウの人工増殖は北大大学院農学系研究院の幸田泰則教授のグループや礼文町高山植物培養センターにより成功しています。無菌発芽による伝統的なランの発芽方法<sup>6)</sup> とともに、北大グループは、レブンアツモリソウに付着していた菌のうちからレブンアツモリソウの発芽・成長に有効な共生菌を選抜して、共生菌発芽による人工培養法<sup>7)</sup> を開発しました。レブンアツモリソウは、ようやく、「特定希少国内野生動植物種」として機能しうる資格を得たといえます。

レブンアツモリソウが市場で売られるようになった場合、どんな問題を生じる可能性があるでしょうか。

まず、野生からの個体と栽培品の区別がつかなくなるのが挙げられます。違法に採取した個体を保持していても栽培品を購入したものと主張されると反論できなくなります。また、善意の気持ちから自生地やその周辺に植えられると、野生品との区別がつかなくなります。この対策には、クローン(遺伝的にまったく同質なもの)識別に有効な遺伝マーカーであるマイクロサテライトマーカーによって販売品の系統を区別し、管理する方法が考えられます。現在、マイクロサテライトマーカーの開発を行っており、識別能力を検定しています。

次に、レブンアツモリソウが全国で潜在的に栽培可能になることで礼文島に花を見に行く価値が下がってしまわないか、ということです。礼文島は現在「花の浮島」として売り出しています。レブンアツモリソウは礼文固有の花ということで、観光資源の目玉の1つです。野生群落で咲く姿を愛でると栽培を楽しむのでは質が異なるように思

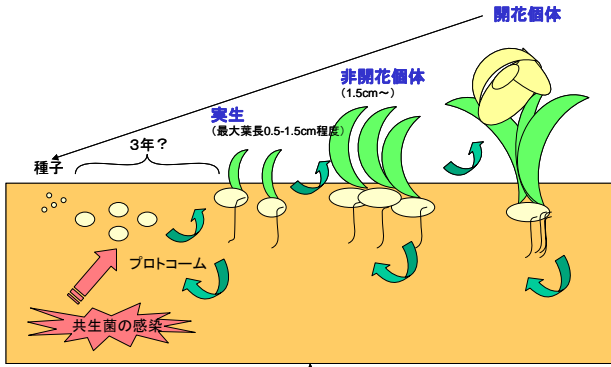


図-1 レブンアツモリソウの生活史

われますが、保全には地元市民の参加・協力はかせません。この研究プロジェクトの中で八巻一成（東北支所森林資源管理研究グループ長）に、社会科学的観点からの保全対策の解析を行っています。

人工培養による増殖個体は販売用以外に自生地での補植や復元にも利用可能です。しかし、無菌培養により、人工増殖した個体は野生のものより突然変異率が高いこと<sup>4)</sup>が危惧されています。現在数千株が野生に存在する状態では、自生地への植え戻しや復元には、より人為影響が少なく自然状態の発芽に近い共生発芽による培養株を用いていくのがよいと考えられます。

### レブンアツモリソウの個体群動態

図-1にレブンアツモリソウの生活史を示しました。種子は一般のランと同様0.5mm以下と小さく、胚乳がないため、発芽成長する際、栄養を必要とします。このとき、ラン菌とも呼ばれるカビの1種の共生菌から栄養を受けて成長します。地下でプロトコームと呼ばれる幼植物段階を経て、地上に現れます。初めて地上に出てきた実生の葉長は2mm程度の大きさしかありません。このあと少しずつ栄養をためながら花を付けない非開花のステージをすごします。ある程度の大きさになると花を付けるようになります。

礼文島北部にあって、個体数が1000~3000と推定される鉄府保護区と、南部の100程度の小集団の2自生地で、1m×1mの方形区をそれぞれ、30と8箇所設けました。ここで、実生・非開花・開花の3ステージに分けて毎年の生死と最大葉長

を測定しました。なお、鉄府は2002年度、南部では2005年度から調査を開始しています。

鉄府と南部小集団のサイズ構成を見てみると鉄府では、実生が見られ、非開花個体が多いのに対し、南部小集団は実生を欠いており、非開花の小サイズの個体の数が少なくなっています(図-2)。このことは鉄府では若い個体が次々と生産されて個体群を維持していると考えられるのに対し、南部では個体群の老齢化が進み若い個体が生産されていないことを示しています。

しかし、この5年間を見ると鉄府集団で図-3、4に示すように増殖率( $\lambda$ )は減少傾向にあります。この理由として、高い死亡率と実生加入数の低下があります。これは調査開始当初実生が多く発見された海に近い方形区とそうではない谷側の方形区とも同様の傾向が見られます。特に、2006年はみかけの死亡率(地上に現れなかったものを死亡として扱ったが、実際は地下で休眠している可能性もある)が特に高い年でした。これは2005年の夏が少雨だったことが影響しているのかもしれませんが、本当に環境の劣化によって個体群が衰退しているのか、長命植物の生活史の中でたまたまの変動なのか、もう少し長い目でモニタリングしていく必要があります。

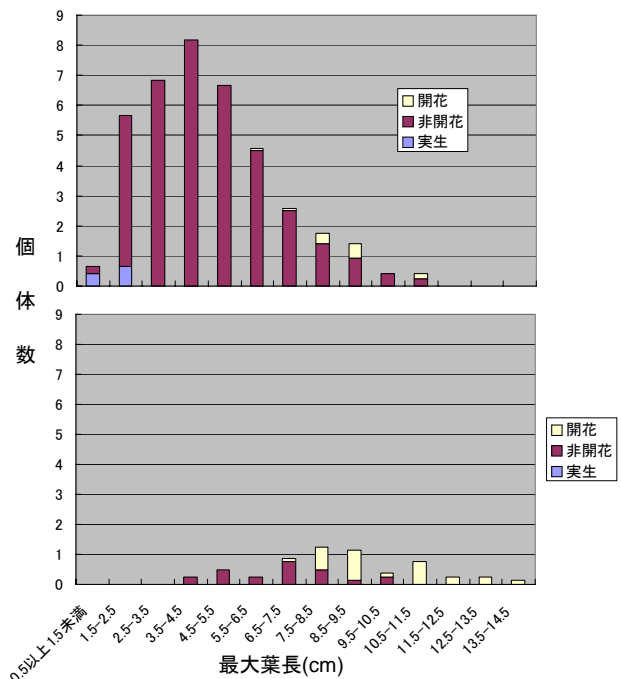


図-2 個体群のサイズと生活史ステージの分布 (1m<sup>2</sup>あたり) 上: 鉄府、下: 南部

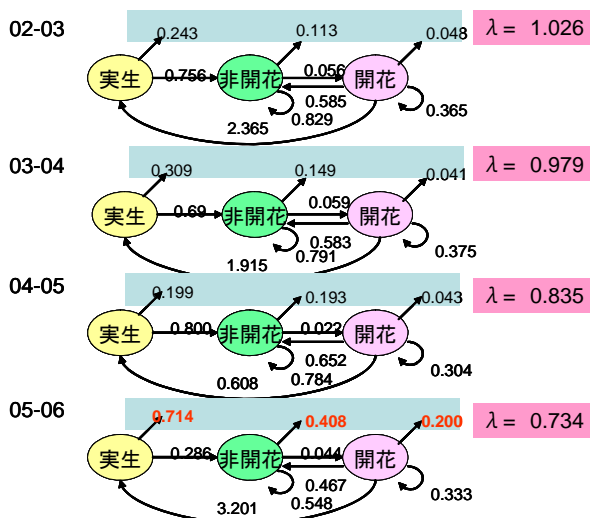


図-3 年次ごとの各生活史ステージの推移確率と個体群増殖率(λ)

(λがより大であれば増加、小であれば減少を意味する)

### レブンアツモリソウの遺伝変異

レブンアツモリソウは現在北部の鉄府及び船泊の大集団と南部の分断された、いくつかの小集団からなっています。これらの集団にどの程度遺伝的変異が保有されており、それぞれの集団の間で遺伝的な違いが生じているのでしょうか。

北海道大学総合博物館の高橋英樹教授とその大学院生の伊澤岳師さんとの共同研究によって酵素多型を使って、これらのことを明らかにしました<sup>2)</sup>。この結果、有効な対立遺伝子は北部で 1.231~1.309 (平均 1.270)、南部で 1.287~1.327 (平均 1.301)、遺伝子多様度は北部で 0.168、南部で 0.186~0.199 (平均 0.193) で、いずれも南部の小集団の方がやや遺伝的多様性が高い傾向にありました。しかし、南部の集団の中には北部で見られた低頻度の対立遺伝子を 2~4 個欠いていました。また、地理的距離に比べ、集団間の遺伝距離が南部で長くなっており、遺伝的浮動の効果が現れていると考えられました。全集団を通じての遺伝的分化の程度は  $G_{st} = 0.085$  と小さく、遺伝的分化がわずかにしか起こっていないことがわかりました。また、近交係数は南部の 1 集団を除いて 0 から有意に外れておらず、ランダム交配をしていると考えられました。以上のことから、レブンアツモリソウは、1) いまだ、健全な遺伝的多様性を保存しているが、2) 南部集団は、小集団化、孤立化に伴い、

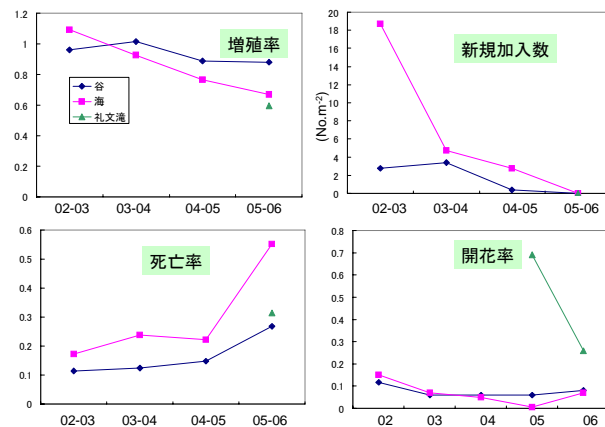


図-4 生活史パラメータの年次変化

対立遺伝子が失われはじめていること、3) 北部と南部の遺伝的な違いは小さく、南部集団の個体数の減少に対し、北部集団由来の個体を移植することによる遺伝的攪乱の心配は少ないことがわかりました。

### カラフトアツモリソウと推定雑種

レブンアツモリソウが自生する鉄府保護区にはカラフトアツモリソウという同じ仲間の別種が生育しています(写真)。本種は 1980 年に初めて見つかりました。しかし、これまでレブンアツモリソウがよく見られていた場所で急に見つかり、個体数も 3 本程度と少ない(最近のわれわれの再調査で 10 個体ほど見つっています)ため、人為植栽が疑われています。また、1987 年には雑種と思われる個体も見つっています(写真)。これが本当に雑種であるのか調べる必要があります。

カラフトアツモリソウの核 ITS 領域と葉緑体 DNA を礼文島産 10 個体、ウラジオストック、中国、エストニアのものも入れて調べたところ、礼文産のものはウラジオストック・中国に共通なマルチハプロタイプをもつものとエストニアに共通なマルチハプロタイプを持つものがありました。現状では礼文産のものが自生なのか人為移植されたものなのか、または両方が入り混じっているのか、結論は出せませんが、さらに海外との個体との比較によって、結論を出していきたいと思います。

表-1 レブンアツモリソウ（またはカラフトアツモリソウ）とカラフトアツモリソウにおける DNA 配列における相違

遺伝子座 (塩基数)	ITS2 (412)			rbcL (877)			psaB- rpl4 (877)			rpl20-rps18 (838)			psbC-trnS (695)			
位置	1	1	1	3	3	3	1	2	5	1	1	5	2	2	3	
	3	3	4	1	3	5	6	3	3	9	6	9	5	2	6	0
	5	7	7	7	9	0	7	2	0	5	3	4	7	4	6	2
							18bp 挿入	約 150bp 挿入			A 挿入	T 挿入	5bp 挿入			
<b>レブン (アツモリ)</b>	<b>G</b>	<b>A</b>	<b>C</b>	<b>G</b>	<b>G</b>	<b>C</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	-	<b>A</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>A</b>
<b>カラフト</b>	<b>A</b>	<b>G</b>	<b>T</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	<b>T</b>	<b>A</b>	<b>+</b>	<b>T</b>	<b>-</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>C</b>

次に、レブンアツモリソウとカラフトアツモリソウに遺伝的差があるかどうか酵素多型と DNA 多型を使って調べました。その結果、両者の間には、ADH, EST-2, GOT-1, GOT-2, IDH-2, LAP, MNR, UGP の 8 種類の酵素遺伝子座と核ゲノムにある遺伝子間領域 ITS2 の 6 箇所、葉緑体ゲノムの rbcL 遺伝子の 3 箇所と 3 箇所の遺伝子間領域の計 7 箇所と多くの違いがありました（表-1）。

これらのマーカーを使って推定雑種を調べてみると、酵素多型マーカーでは一部の個体における一部の酵素種を除いてすべてレブンアツモリソウとカラフトアツモリソウの両方のマーカーを持ち合わせていました。核ゲノムの ITS2 でも両方のマーカーを持ち合わせていました。これらの遺伝マーカーは核ゲノムに遺伝子がコードされているので、推定雑種が本当に雑種であったことが証明されました。上で述べた一部の例外は、雑種の 2 個体に MNR と EST-3 でレブンアツモリソウ型を示すものがあったことです。この理由として、1) 交雑 1 代から再交雑 (F<sub>2</sub>) または戻し交雑 (BC<sub>1</sub>) により次世代雑種ができて、2) マーカー酵素に酵素を発現しない型の変異 (ヌル) があり、本来雑種なのにカラフトアツモリソウ型がヌルとなっていて発現されず、見かけ上レブンアツモリソウ型となっている、ということが考えられます。

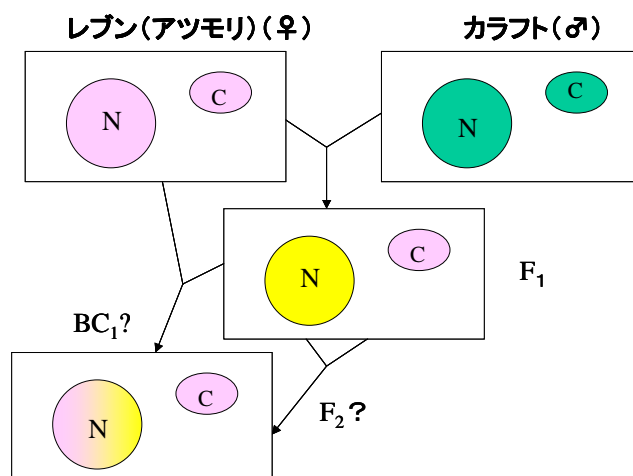


図-5 レブンアツモリソウ（またはカラフトアツモリソウ）とカラフトアツモリソウの雑種形成

一方、推定雑種の葉緑体ゲノム DNA マーカーはすべてレブンアツモリソウ型を示しました。葉緑体ゲノムは被子植物では一般に母親から遺伝することが知られます。

以上のことから、図-5 で示されるように、鉄府保護区に見られた推定雑種は、レブンアツモリソウ（または次に述べる理由でアツモリソウ）を母親、カラフトアツモリソウを父親とした交配による雑種であることがわかりました。同じプロジェクトの中でレブンアツモリソウに来る訪花昆虫の生態の研究を分担していただいている熊本大学の杉浦准教授によれば、ハチの生態を考えると花

の小さいカラフトアツモリソウが花粉がつきやすいので、雑種父親になっているのは妥当であるとのことです。

ところで、ここまでレブンアツモリソウのみを取り上げてきましたが、礼文島には少ないながら同種で、紫紅色花を持つアツモリソウもあります。Jo et al.<sup>5)</sup>はレブンアツモリソウと紫紅色のアツモリソウには遺伝的違いがあり、区別できるとしていましたが、解析する個体数や地域を増やしていくと両者の遺伝的区別が難しいことがわかってきました。そのため、レブンアツモリソウとアツモリソウは遺伝的に区別するのが難しく、どちらが雑種親になっているのかまだ確定できません。

ウラジオストック周辺の調査では多数の雑種を観察することができました。ここではさまざまな花色の変異をもつアツモリソウが見られました。カラフトアツモリソウにも鮮黄色～汚黄色の唇弁や紫から栗色の側花弁や萼片を持つものが見られました。雑種は、礼文島で見られる深紅色をもつもの以外に、淡紅色の唇弁をもつものや紫紅色～淡緑色の側花弁・萼片を持つものまでさまざまな変異のものがありません。ウラジオストックの雑種では、色の薄いものは白花のアツモリソウとカラフトアツモリソウとの交雑を、色の濃いものは紫紅色のアツモリソウとカラフトアツモリソウとの交雑を想像させます。その結果、紫紅色の唇弁を持つ礼文島の雑種は、本当にクリーム色の唇弁をもつレブンアツモリソウが母親なのか？という疑問を持たせます。礼文島には紫紅色のアツモリソウはわずかにあるのですが、結実率がレブンアツモリソウに比べ大変低く(高橋、未発表)、訪花頻度が低いと考えられる中で、雑種親となれる可能性は低いと考えられます。そこで考えられるのは雑種自体が現地でできたものではなく、移植個体である可能性です。現在、マイクロサテライトマーカーを使って雑種が現地の親種の交配からできていることが説明可能かどうかを調べているところです。

## おわりに

レブンアツモリソウの研究を始めて新しい知見



古紙配合率100%の再生紙を使用しております。

が得られていくとともに、新しい疑問が次々と現れてきました。問題を解決しながら、希少種保全のよいモデルとなるよう研究を進めていきたいと思えます。本研究の遂行に当たって、環境省、林野庁、礼文町、鉄府保護区監視員の皆様にはお世話になっております。また、礼文島で調査協力をいただいている宮本誠一郎氏、杉田美野里氏には記して感謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) Cribb, P. (1997) The Genus *Cypripedium*. Timber Press, Portland, 301pp.
- 2) Izawa, T., Kawahara, T., Takahashi, H. (2007) Genetic diversity of an endangered plant, *Cypripedium macranthos* var. *rebunense* (Orchidaceae): background genetic research for future conservation. Conserv.Genet.Online Ed. From March 15 <http://www.springerlink.com/content/105709/>
- 3) Jo, S., Ochiai, M., Furuta, K., and Yagi, K. (2005) Genetic Analyses of Genus *Cypripedium* found in northern Japanese islands and related species endemic to northeast China. 園芸学雑誌 74(3): 234-241.
- 4) 環境庁(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—8 植物 I(維管束植物). 自然環境研究センター, 661pp.
- 5) Larkin, P.J. Scowcroft, W.R. (1981) Somaclonal variation: novel source of variability from cell cultured for plant improvement. Theor. Appl. Genet. 60: 197-214.
- 6) Shimura, H. and Koda, Y. (2004) Micropropagation of *Cypripedium macranthos* var. *rebunense* through protocorm-like bodies derived from mature seeds. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 78: 273-276.
- 7) Shimura, H. and Koda, Y. (2005) Enhanced symbiotic seed germination of *Cypripedium macranthos* var. *rebunense* following inoculation after cold treatment. Physiol. Plant. 123: 281-287.

## 研究レポート NO. 97

発行 平成19(2007)年11月16日  
編集 独立行政法人  
森林総合研究所北海道支所  
〒062-8516 札幌市豊平区羊ヶ丘7  
電話 (011) 851-4131  
FAX (011) 851-4167  
URL <http://www.ffpri-hkd.affrc.go.jp/>