

菌従属栄養ラン・トラキチラン属3種の細胞学的研究

青山幹男
 広島大学技術センター植物管理室
 〒739-8526 東広島市鏡山1丁目3-1

Cytological studies on three species of *Epipogium*, myco-heterotrophic orchids.

Mikio Aoyama
 Botanical Garden, Technical Center, Hiroshima University
 1-3-1, Kagamiyama, Higashi-Hiroshima City 739-8526, Japan

Summary

Cytological studies on three species of genus *Epipogium*, myco-heterotrophic orchids, were carried out. *E. aphyllum* had the chromosome number of $2n=72$, $2n=36II$ and $n=36$, that was different from the previous counts of $n=34$ (Francini 1930, Afzelius 1954) and $2n=68$ (Gurzenkov 1973, Uhrikova and Majovsky 1980). The chromosome complement at resting stage showed the complex chromocenter type and the metaphase chromosomes showed a bimodal karyotype in length consisted with six large chromosomes varied from 6.5-4.2 μm and 66 small chromosomes varied from 2.1-1.4 μm . *E. japonicum* had the chromosome number of $2n=78$, confirmed the previous report (Aoyama 2008). The chromosome complement at resting stage showed the diffuse type, and the metaphase chromosomes showed a gradual decrease in chromosome length from 2.0-1.1 μm . *E. roseum* had the chromosome number of $2n=ca.70$, $2n=35II$ and $n=35$, that was different from the previous count of $2n=68$ (Singh 1983). The chromosome complement at resting stage showed the complex chromocenter type, and the metaphase chromosomes showed a gradual decrease in chromosome length from 1.7-0.7 μm . Thus, the genus *Epipogium* included heterogeneous species karyomorphologically.

緒言

ラン科植物は、進化の過程で菌類に供給される栄養分で発芽生育を行う仕組みを獲得した。さらに全生活史を菌類に依存し光合成による同化養分を作らない菌従属栄養ランが分化し、無葉緑ランまたは腐生ランとも呼ばれている。

これらのランは地中にある特定の菌類に依存しているため環境の変化に弱く、また栽培も不可能である。生活史の多くは菌類の養分供給を受けながら地中で徐々に生育し、養分を十分蓄積した塊茎や根茎から開花期にのみ花茎を地上に伸ばして開花結実する。

ラン科植物の染色体研究は、観賞価値が高い着生種を中心に古くから進められ多くの知見が報告されている。しかし、菌従属栄養ランの多くは、分布域が狭い、生育個体数が少ない、出現時には分裂組織に限られる、などの理由により研究報告が少ない。日本に産する36種の菌従属栄養ランのうち染色体数が報告されているのは9種類に留まる。

本研究では、日本に分布する菌従属栄養ランのトラキチラン属3種における染色体数および核型を明らかにするとともに、種間の核形態を比較した。

材料および方法

トラキチラン(*Epipogium aphyllum* Sw.)の観察には、9月上旬に長野県中部の標高1600mのモミ林に出現開花した個体を用いた(図1)。

アオキラン(*Epipogium japonicum* Makino)の観察には、9月上旬に長野県南部の標高1400mの落葉樹林に出現開花した個体を用いた(図2)。



図1. 自生地で開花しているトラキチラン



図2. 自生地で開花しているアオキラン



図 3. 自生地で開花しているタシロラン

タシロラン (*Epipogium roseum* (D. Don) Lindl.) の観察には、7 月上旬に広島県南西部の標高 15m のシイ・タブ林に出現開花した個体を用いた(図 3)。

本研究に用いた 3 種のトラキチラン属植物は、すべて自然の自生地に生育している開花初期の個体である。

染色体の観察には、若い蕾から切り取り薄く輪切りにした子房部位を用いた。直ちに 2mM の 8-オキシキノリンに浸漬し、15 で 4 時間前処理した。その後、5 の酢酸アルコールで 24 時間以上固定処理した。塩酸解離処理後にスライドガラス上で胚珠を含む胎座組織を取り、2%酢酸オルセインで染色し押しつぶし法でプレパラートを作成した。

静止期染色体の分類区分は Tanaka (1971) に従い、動原体位置による中期染色体の区分は Leven *et al.*(1964)に従った。

観察結果

植物染色体の観察には、通常は根端や茎頂の分裂組織の細胞を用いるが、菌従属栄養植物の多くは地上に出現した開花時にそのような分裂組織が生育を停止している。著者はこれまでに若い蕾の子房やずい柱の若い分裂細胞を用いて多くの菌従属栄養ランの染色体を観察し報告した。

若い胚珠の外壁組織では通常の体細胞分裂が観察され、胚珠内部では胚のう母細胞の減数分裂が行われていた(図 6D)。アオキランでは体細胞分裂のみが観察されたが、トラキチランとタシロランでは体細胞分裂と減数分裂の両方において中期染色体を観察することができた。

トラキチラン (*Epipogium aphyllum* Sw.) $2n=72$, $2n=36II$ and $n=36$.

静止期染色体は、大きさや形が不揃いな凝縮塊を約 10 個形成し、複雑染色中央粒型を示した(図 4A)。体細胞分裂前期染色体の早期凝縮部は基部および介在部に分布していた(図 4B)。

染色体数は、胚珠組織の 2 細胞の体細胞分裂中期核板で $2n=72$ (図 4C)を、胚のう母細胞の減数分裂第一中期で $2n=36II$ (図 4D)、減数分裂第二前中期および第二中期で $n=36$ (図 4E, 4F)

を確認した。

減数分裂第二中期染色体では、染色体長は 6.5 μ m から 4.2 μ m までの 3 個の大型染色体と 2.1 μ m から 1.4 μ m までの 33 個の小型染色体とに区分され、二相的核型を示した(図 4G)。動原体の位置は、1 番目の大型染色体が次中部動原体型で 2-3 番目の大型染色体が次端部動原体型であった。小型染色体では、1 個が中部動原体型で、10 個が次中部動原体型で、3 個が次端部動原体型であったが残りの 19 個の小型染色体では動原体位置を確認できなかった。

アオキラン (*Epipogium japonicum* Makino) $2n=78$

静止期染色体は濃く均一に染色し、仁の部位が透明で空洞状に観察され、分散型を示した(図 5A)。体細胞分裂前期染色体の早期凝縮部は基部に分布していた(図 5B)。

染色体数は、胚珠組織の 4 細胞の体細胞分裂中期核板で $2n=78$ を確認した(図 5C)。染色体長は 2.0 μ m から 1.1 μ m まで連続的に短くなっていった(図 5D)。78 個の染色体のうち、33 個は中部動原体型、17 個は次中部動原体型、2 個は次端部動原体型で、残りの 26 個では動原体位置を確認できなかった。

タシロラン (*Epipogium roseum* (D. Don) Lindl.) $2n=ca.70$, $2n=35II$, $n=35$.

静止期染色体は、約 15 個の大きさや形が不揃いな凝縮塊を形成し、複雑染色中央粒型を示した(図 6A)。体細胞分裂前期染色体の早期凝縮部は多くが基部に分布していた(図 6B)。

染色体数は、胚珠組織の 2 細胞の体細胞分裂中期核板で $2n=ca.70$ (図 6C)を、胚のう母細胞の減数分裂第一中期で $2n=35II$ (図 6E)、減数分裂第二中期で $n=35$ (図 6F)を確認した。減数分裂第二中期では、染色体長は 1.7 μ m から 0.7 μ m まで連続的に短くなっていった(図 6G)。動原体の位置は、1 番目の染色体が次中部動原体型で 2~4 番目の染色体 3 個が次端部動原体型で、残りの 31 個の染色体では動原体位置を確認できなかった。

考察

本属の染色体数は、トラキチランで $2n=72$, $2n=36II$, $n=36$ 、アオキランで $2n=78$ 、タシロランで $2n=ca.70$, $2n=35II$, $n=35$ を確認した。過去には、トラキチランで $2n=68$ (Gurzenkov 1973, Uhrikova and Majovsky 1980) と $n=34$ (Francini 1930, Afzelius 1954) が、アオキランで $2n=78$ (Aoyama 2008) が、タシロランで $2n=68$ (Singh 1983) が報告されている。著者が報告したアオキランの前報を除くとすべて過去の報告と異なった。さらにこの 3 種は染色体数が相互に異なり、その数もラン科植物の中では比較的多い数であった。

この 3 種の染色体長は、トラキチランで 6.5 μ m から 1.4 μ m、アオキランで 2.0 μ m から 1.1 μ m、タ

シロランで 1.7 μm から 0.7 μm の範囲で変異し、染色体長においても相互に異なっていた。特に、トラキチランでは特徴的な大型染色体 6 個を含む二相的核型を示し、他の 2 種が連続的に短くなる核型を示したのとは明らかに異なった。

静止期染色体の形態も、アオキランが分散型を示したが、トラキチランとタシロランは複雑染色中央粒型を示し相互に異なっていた。

これらのことから、今回観察した 3 種は核形態学的には異なる特徴を示し、本属は異質な種で構成されていることが考えられる。

菌従属栄養ランにおける属内の染色体数変異はオニノヤガラ属でも観察され、オニノヤガラ (*Gastrodia elata*) で $2n=36$ がアキザキヤツシロラン (*G. confuse*) で $2n=22$ が報告された(青山・田中 1986)。菌従属栄養ランの多くは研究資料が少なく、分類的に異質な種を包含している可能性が示唆される。本属においても種間の系統関係や分類学的位置を明らかにするためには、近縁属の種を含めた研究をさらに進める必要がある。

謝辞

本研究を行なうにあたり、鳥取大学菌類きのご遺伝資源研究センターの谷亀高広氏、広島大学名誉教授の関太郎氏ならびに広島市植物公園の世羅徹哉氏にご協力をいただいた。ここに感謝の意を表す。

引用文献

- Afzelius, K. 1954. Embryo-sac development in *Epipogium aphyllum*. Sv. Bot. Tidskr. 48: 513-520.
- Aoyama, M. 2008. Cytological studies on two saprophytic orchid-species of *Neottia asiatica* Ohwi and *Epipogium japonicum* Makino. Chromosome Botany 3: 49-52.
- 青山幹男・田中隆荘. 1986. オニノヤガラとアキザキヤツシロランの核形態学的研究. La Kromosomo II-42:1336-1340.
- Francini, E. 1930. Primi dati di una revisione critica della sviluppo del gametofito gemmineo del genere *Cypripedium*. Nuovo Giornale Bot. Ital. 37: 277-278.
- Gurzenkov, N. N. 1973. Studies of chromosome numbers of plants from the south of the Soviet Far East. Komarov Lectures 20: 47-61.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
- Singh, F. 1983. In IOPB chromosome number reports LXXVIII. Taxon 32: 140-141.
- Tanaka, R. 1971. Types of resting nuclei in Orchidaceae. Bot. Mag. Tokyo 84:118-122.
- Uhrikova, A. and Majovsky, J. 1980. In IOPB chromosome number reports LXIX. Taxon 29: 725-726.

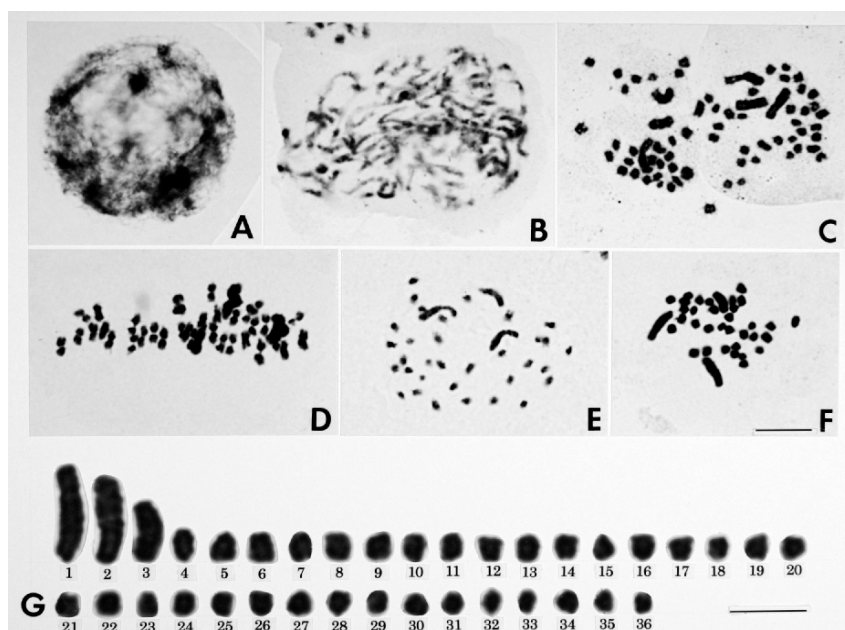


図 4. トラキチランの染色体顕微鏡写真。

- A, 体細胞静止期染色体 . B, 体細胞分裂前期染色体 . C, 体細胞分裂中期染色体, $2n=72$.
 D, 減数分裂第一中期染色体, $2n=36\text{II}$. E, 減数分裂第二前中期染色体 . F, 減数分裂第二中期染色体, $n=36$. G, 減数分裂第二中期染色体核型の核型 . スケール F は A-F で 10 μm . スケール G は 5 μm .

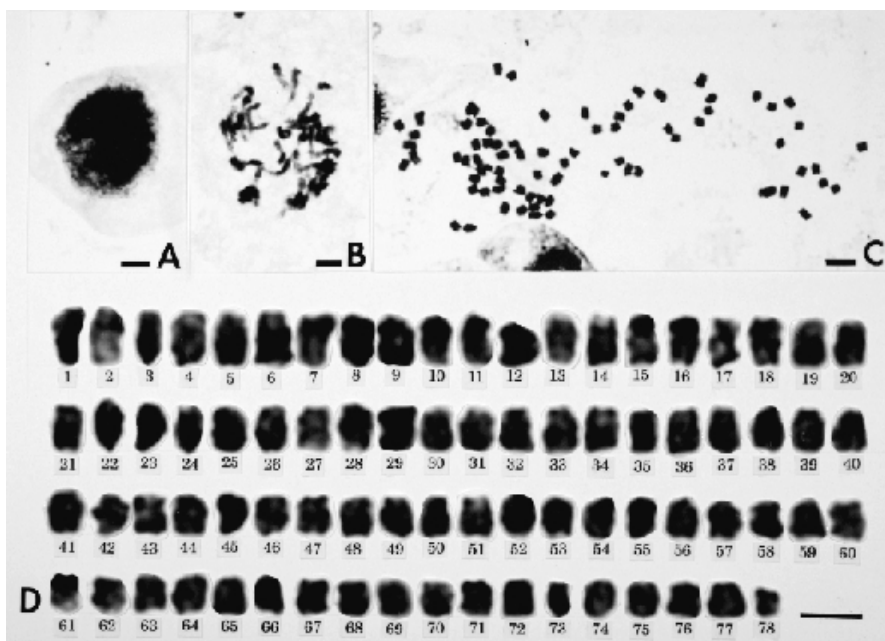


図5. アオキランの染色体顕微鏡写真.

A, 体細胞静止期染色体 . B, 体細胞分裂前期染色体 . C, 体細胞分裂中期染色体, $2n=78$.
 D, 体細胞分裂中期染色体の核型 . スケール A-C は $5\mu\text{m}$. スケール D は $2.5\mu\text{m}$.

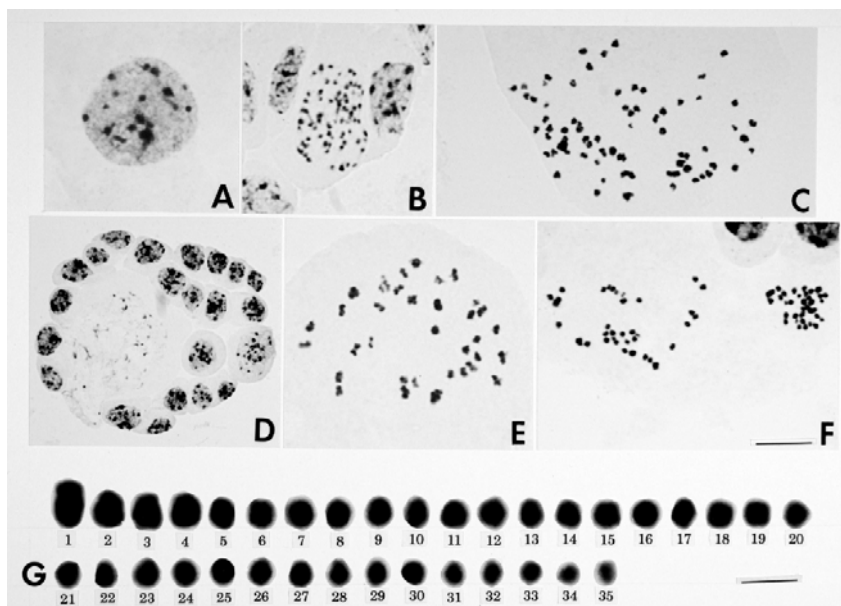


図6. タシロランの染色体顕微鏡写真.

A, 体細胞静止期染色体 . B, 体細胞分裂前期染色体 . C, 体細胞分裂中期染色体, $2n=70$. D, 若い胚珠組織, 中央に胚のう母細胞の分裂第一前期染色体 . E, 減数分裂第一中期染色体, $2n=35\text{II}$. F, 減数分裂第二中期染色体, $n=35$. G, 減数分裂第二中期染色体の核型 . スケール F は A-C, E-F で $10\mu\text{m}$, D で $25\mu\text{m}$. スケール G は $2\mu\text{m}$.