

炭素安定同位体比を用いた希少ラン科植物の移植成否判定

清水建設（株）技術研究所	正会員	○渡部 陽介
清水建設（株）技術研究所	正会員	平野 堯将
清水建設（株）技術研究所	非会員	松岡 達也
東京大学大学院新領域創成科学研究科	非会員	奈良 一秀

1. 背景・目的

混合栄養植物とは、生育に必要な養分を光合成と根に生育する菌根菌を介して宿主樹木から得る植物である。本研究の対象であるラン科植物キンラン属も混合栄養植物である。混合栄養植物は開発事業での移植需要が高く、多数の移植が実施されている。しかし、生育には植物・菌根菌・宿主植物の三者共生という特殊な生育条件が必要で、活着率が低く失敗する場合が多い。確実性の高い移植に向け、モニタリングに基づく手法の検証・改善が重要である。

一般に移植後のモニタリングでは、個体出芽の有無で成否判断される。しかし、混合栄養植物の場合、出芽の有無だけでは移植後に新たに共生関係を構築できているか判断することが困難である。

上記課題に対し、本研究では安定同位体比に着目した。混合栄養植物には光合成由来の養分（炭素）と菌由来の養分（炭素）が存在しており、光合成由来の炭素と比較して、菌由来の炭素は $\delta^{13}\text{C}$ の割合が大きいことが知られている。この特性を活用し、 $\delta^{13}\text{C}$ の増減で共生状況を推定できる可能性がある。

本報告では安定同位体比を用いた移植成否判定の可能性を検証することを目的とした。具体的には、まず、独立栄養植物と比較したときにキンラン属の自生株・移植株の安定同位体比の位置付けを分析した。次に、移植株の個体追跡調査により移植後の安定同位体比の経年変化を分析した。

2. 研究方法

対象地は筆者らが 2013 年から 2020 年までの 7 年間、キンラン属の自生株・移植株の生育状況を経年モニタリングした樹林 A（二次林/約 0.6ha）と樹林 B（植栽林/約 1.0ha）とした。

分析試料として、キンラン・ギンランの移植株・自

生株およびその周辺に生育する独立栄養植物の葉の一部を採取した。移植株は 2014 年から 2020 年の夏季にキンラン 22 個体、ギンラン 10 個体を対象とした。自生株は、2017 年の夏季と秋季および 2018 年にキンラン 49 個体、ギンラン 17 個体を対象とした。

安定同位体比の測定手順は、まず、採取した葉を 70°C のオーブンで 48 時間乾燥させた。その後、ジルコニアボールとともに 2 ml チューブに入れ、粉砕機で試料を粉砕した。粉砕試料約 3 mg を 0.15 ml のすずカプセルに包み込み、シリカゲルの入った容器に入れて保存した。安定同位体質量分析計 (Delta V Advantage, Thermo Fisher Scientific Inc.) を用いて $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ を測定した。測定した試料の炭素と窒素の安定同位体比は以下の式に基づき $\delta^{13}\text{C} [\text{‰}]$ と $\delta^{15}\text{N} [\text{‰}]$ へ換算し、解析した。

$$\delta^{13}\text{C} [\text{‰}] = \{ ({}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}_{\text{試料}}) / ({}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}_{\text{PDB}}) - 1 \} \times 10^3$$

$$\delta^{15}\text{N} [\text{‰}] = \{ ({}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{試料}}) / ({}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{大気}}) - 1 \} \times 10^3$$

3. 結果

1) キンラン属の安定同位体比の位置づけ

キンラン属自生地個体と移植後の個体、周辺の独立栄養植物 5 種の安定同位体比の平均値と標準偏差を示す (図 1)。キンラン、ギンランともに $\delta^{13}\text{C}$ は周辺の独立栄養植物より高い値を示す傾向があった (キンラン $p < 0.01$; ギンラン $p < 0.05$, t 検定)。 $\delta^{15}\text{N}$ も、キンラン、ギンランはいずれも独立栄養植物より高い値を示した (キンラン $p < 0.01$; ギンラン $p < 0.01$, t 検定)。自生個体と移植個体の比較をすると、採取年に関わらず、 $\delta^{13}\text{C}$ の値は移植個体で有意に低かった (キンラン 2017 年: $p < 0.01$, 2018 年: $p < 0.05$, 2019 年: $p < 0.01$ / ギンラン 2017 年: $p = 0.09$ ※ 2018 年と 2019 年のギンラン自生個体が 1 個体のみであるため検定は未実施, t 検定)。 $\delta^{15}\text{N}$ は、自生個体と移植個体で顕著な差異

キーワード 混合栄養植物, キンラン, 移植, 安定同位体, 移植成否判定,

連絡先 〒135-8530 東京都江東区越中島三丁目 4 番 17

清水建設株式会社技術研究所 TEL090-2525-5045

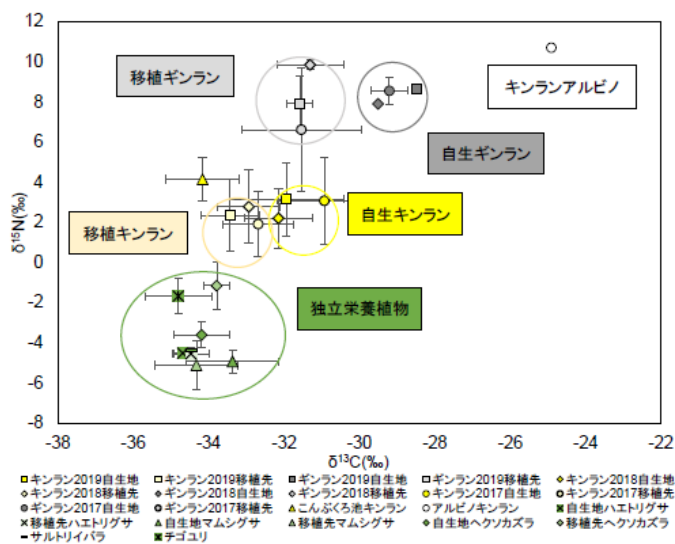


図1 キンラン属自生個体と移植個体及び
周辺植物の自然安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)

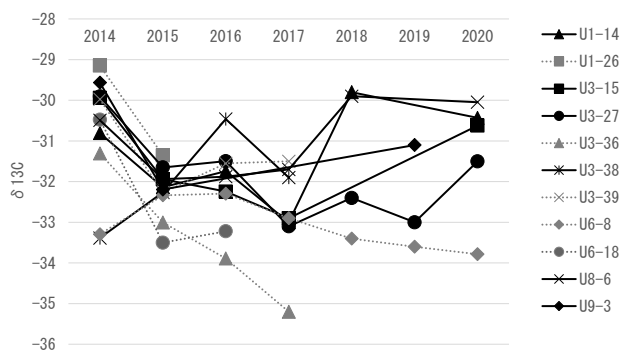


図2 移植個体別の $\delta^{13}\text{C}$ の経年変化
(キンラン)

は見られなかった (キンラン (2017年: $p=0.71$ 、2018年: $p=0.31$ 、2019年: $p=0.15$) ; ギンラン (2017年: $p=0.44$))。

2) 移植個体の炭素安定同位体比の経年変化

キンラン移植個体の個体別の炭素安定同位体の経年変化を示す (図2)。2014年の移植後に $\delta^{13}\text{C}$ が低下した個体が多かったものの、その後、回復が見られた個体が4株見られた。このうち、U1-14、U8-6の $\delta^{13}\text{C}$ は、移植から4年経過した2018年に移植前と同程度まで回復し、移植後6年が経過した2020年も同水準で維持されていた。一方、ギンランでは、移植後に $\delta^{13}\text{C}$ が一時的に上昇傾向に転じた個体も見られたが、基本的には減少傾向であった。

$\delta^{13}\text{C}$ が増加傾向のキンラン個体は移植直後に草丈は低下したものの、その後に草丈、花数がともに増加する傾向が見られた (図3)。 $\delta^{13}\text{C}$ が減少傾向の

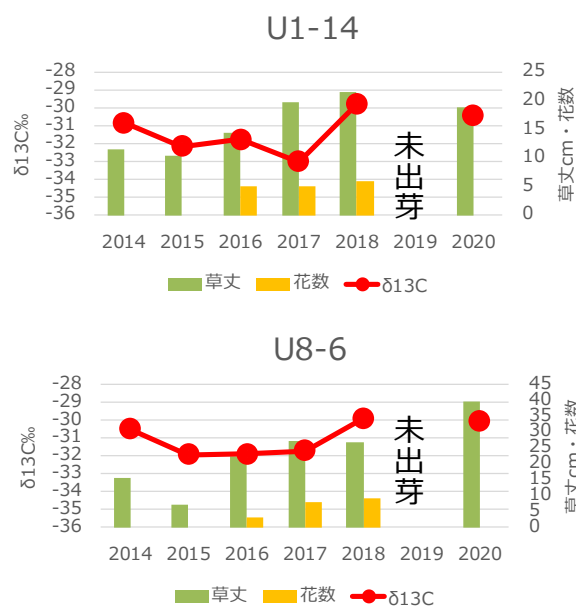


図3 $\delta^{13}\text{C}$ 増加傾向株の生育状況

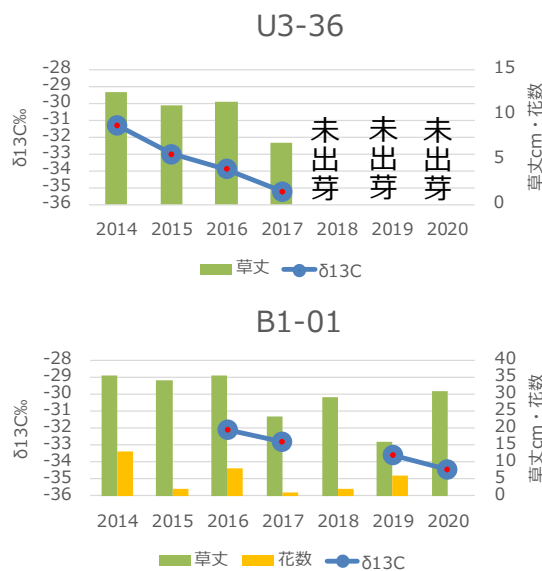


図4 $\delta^{13}\text{C}$ 減少傾向株の生育状況

個体は移植後に一貫して $\delta^{13}\text{C}$ の値が低下し、草丈も低下する傾向が見られた (図4)。 $\delta^{13}\text{C}$ が減少傾向かつ未出芽が続いた個体の掘取調査を実施した結果、地中では見当たらず消失が確認された。

4. まとめ

移植個体の多くは移植後5年が経過しても移植前より $\delta^{13}\text{C}$ が減少する一方、 $\delta^{13}\text{C}$ が移植前と同程度まで上昇した個体も確認された。移植に伴う共生関係の経年変化を観測ができ、安定同位体比によって菌根菌とのネットワーク再構築をモニタリングでき、移植成否に活用できる可能性が示唆された。