

菌従属栄養植物の進化に伴う菌根菌相のシフト -進化の道のりでおこった菌根共生のダイナミックな変化-

辻田 有紀^{1*}・横山 潤²・三吉 一光³・遊川 知久⁴

¹東北大学植物園 〒980-0862 仙台市青葉区川内 12-2

(現所属: 佐賀大学農学部 応用生物科学科 〒840-8502 佐賀市本庄町 1 番地)

²山形大学理学部 生物学科 〒990-8560 山形市小白川町 1-4-12

³千葉大学大学院 園芸学研究科 〒271-8510 千葉県松戸市松戸 648

⁴国立科学博物館筑波実験植物園 〒305-0005 つくば市天久保 4-1-1

Yuki Ogura-Tsujita¹, Jun Yokoyama², Kazumitsu Miyoshi³, Tomohisa Yukawa⁴

Shifts in mycorrhizal fungi during the evolution of autotrophy to mycoheterotrophy

Key words: autotrophy, *Cymbidium*, mixotrophy, mycoheterotrophy, mycorrhizal fungi

¹Botanical Gardens, Tohoku University

12-2 Kawauchi, Aobaku, Sendai, Miyagi 980-0862, Japan

Current address: Department of Applied Biological Sciences, Faculty of Agriculture, Saga University, 1 Honjo-machi, Saga 840-8502, Japan

²Department of Biology, Faculty of Science, Yamagata University

1-4-12 Kojirakawa-machi, Yamagata 990-8560, Japan

³Graduate School of Horticulture Laboratory of Ornamental Plant Science, Chiba University
Matsudo, 271-8510, Japan

⁴Tsukuba Botanical Garden, National Museum of Nature and Science
4-1-1, Amakubo, Tsukuba, Ibaraki 305-0005, Japan

1. はじめに

光合成をやめてしまった植物である菌従属栄養植物は一体どのように進化してきたのか? そのカギは菌根菌との共生関係が狂ってしまったことにある。通常、植物は光合成によってせっせと自分で二酸化炭素と水から有機炭素である糖を合成しながら暮らしている。一方、菌従属栄養植物は光合成ではなく、共生する菌根菌から有機炭素をもらって暮らしている。多くの光合成植物では、光合成で得た炭素を菌根菌に受け渡すかわりに、菌からリンや窒素などの栄養分をもらうという持ちつ持たれつ関係を保っているが、菌従属栄養植物では、炭素までも菌から搾取してしまうのだ。働かずして炭素をもらえるのだから、彼らの菌根共生は植物にとってまさに「究極」といえる。本総説では、菌従属栄養植物にみられる「究極」の菌根共生パターンを紹介し、ラン科植物をモデルに菌根菌の共生関係がどのように変化していったのか、その謎に迫った私達の研究例を紹介して、最後に本研究分野における今後の展望を考える。

2. 菌従属栄養植物の菌根共生パターン

1990年代から、DNAの情報を利用して菌の種類を特定するいわゆる分子同定法が普及し、世界中の研究者が競ってこの物珍しい植物の菌根菌を調べ上げていった (Cullings et al. 1996, Taylor & Bruns 1997, Selosse et al. 2002 ほか)。情報の集積にともなって見えてきたのは、菌従属栄養植物は近縁な光合成植物とは全く異なる特殊な菌根菌との共生関係を築き上げていたのである。さらに、独立栄養から菌従属栄養への進化は、コケ植物から被子植物まで陸上植物の様々な系統で独立に40回以上おこっているが (Merckx et al. 2013)、菌根共生の特殊化にはいくつかのパターンがあることがわかってきた。

まずは、コケ植物のタイ類スジゴケ科でおこった菌根共生のダイナミックな変化を紹介しよう (図1)。多くのタイ類はグロムス門の菌類とアーバスキュラー菌根共生とよばれる共生系を形成しているが、その中から、菌根菌と共生しない非菌根性の系統が出現し、さらにその中から、担子菌のツラスネラという他と全く異なる種類の菌と共生するスジゴケ科が出現

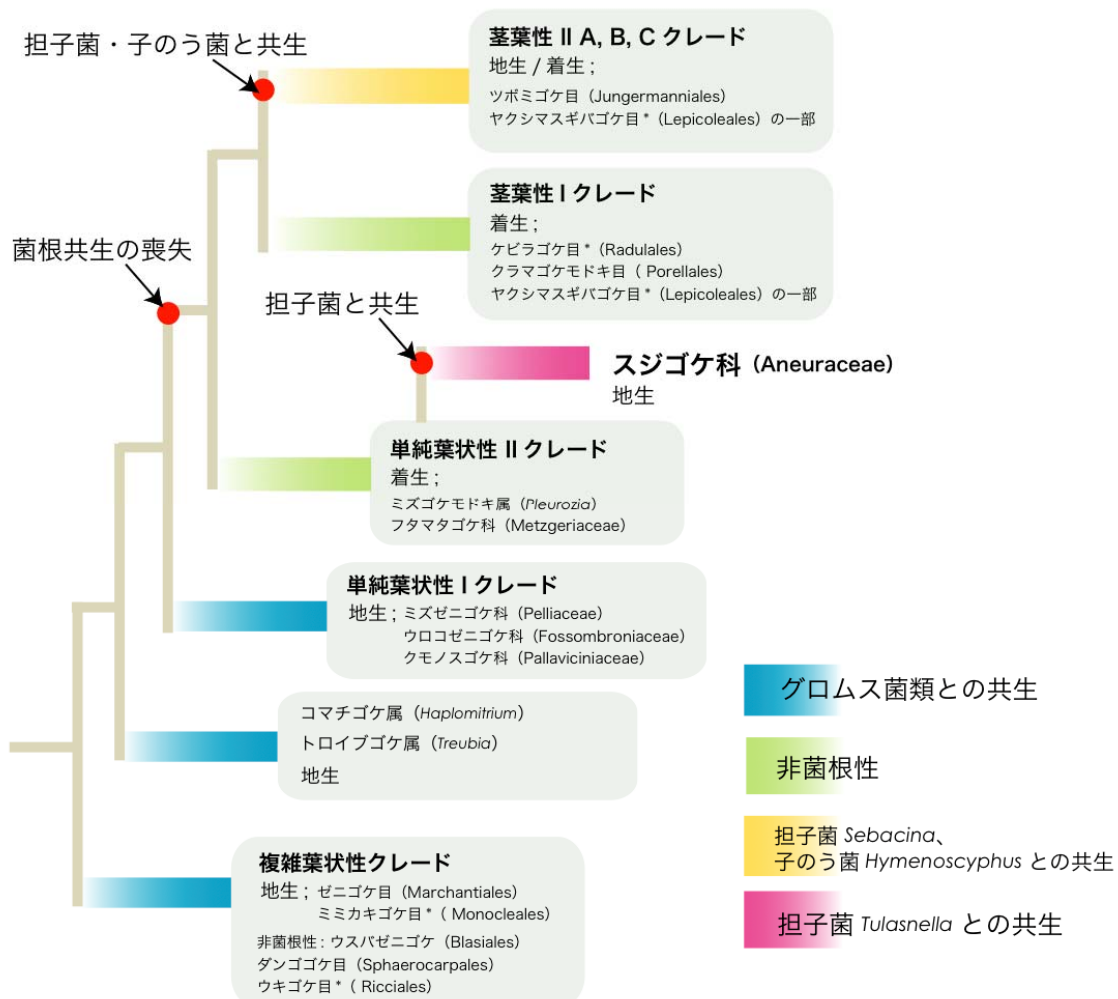


図1 コケ植物タイ類での菌根共生の変化 (Kottke & Nebel 2005 を改変。植物の分類体系は Davis (2004)による)。矢印は共生関係が変化したポイントを示す。*は現在使われていない分類群名で、現在 Lepicoleales は Lepicoleaceae としてツボミゴケ目に、Radulales は Radulaceae としてクラマゴケモドキ目 (Porellales) に、Monocleales は Monocleaceae としてゼニゴケ目に、Ricciales は Ricciareaceae としてゼニゴケ目に含まれている (嶋村 2012)

する (Bidartondo et al. 2003, Kottke & Nebel 2005)。そしてその後、担子菌と共生する系統の中から、*Aneura mirabilis* (*Cryptothallus mirabilis*) という菌従属栄養植物が誕生した。植物の進化の道の中で、菌根菌との共生関係は大きく変化している。同様に他の系統においても、このような菌従属栄養化に伴う共生関係のダイナミックなシフトが見つかっており、そのシフトパターンは収束する菌の種類によっておおざっぱに 2-1 から 2-3 の 3 つに分けられる。それぞれの共生パターンをもつ植物名や菌の種類は第 4 章に詳述されているため、ここでは、共生関係のシフトパターンについて焦点をしばって紹介する (さらに詳しい内容は Bidartondo (2005), Smith & Read (2008), Selosse & Roy 2009, Waterman et al. (2013) 参照)。

2-1. 外生菌根菌へのシフト

主にツツジ科とラン科の菌従属栄養種に見られ、共生相手は本来樹木と菌根共生を行っている外生菌根菌である。そもそも外生菌根菌は樹木から炭素をもらって暮らしているのだから、その外生菌根菌から炭素をもらって暮らしている菌従属栄養植物は、結局は周辺の樹木が光合成で得た炭素を菌根菌の菌糸を介して利用していることになる (図 2)。このように樹木・菌根菌・菌従属栄養植物という 3 つの生き物がつながっている状態は、3 者共生系とよばれている。

ツツジ科の中で最も古い系統であるドウダンツツジの仲間は、アーバスキュラー菌根性であると報告されていることから (Abe 2005, Obase & Matsuda 2013)、ツツジ科はもともとアーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) と菌根共生していた可能性が高い。菌従属栄養植物であるギンリョウソウやシャクジョウソウの仲間は、この次に古い系統で、外生菌根性の担子菌類と共生している。おそらくツツジ科では光合成をやめる進化の過程で、菌根菌が AM 菌から外生菌根菌へすりかわってしまったのではないかと予想される。

ラン科では、最も古い系統であるヤクシマランの仲間を含むほとんどの種が、ラン型菌根菌とよばれる担子菌のグループ (ツラスネラ科, ケラトバシディウム科, ロウタケ科の一部を含む) と共生していることから (Yukawa et al. 2009)、菌従属栄養化に伴って、共生する菌がラン型菌根菌から外生菌根菌へシフトしたと考えられる。ラン科は約 25,000 種を含む大きな科であるが、ラン科の中だけでも光合成をやめる進化が 20 回あまりおこっているとされており (Molvray et al. 2000)、外生菌根菌への乗り換えはラン科の中だけでも幾度も繰り返されている。

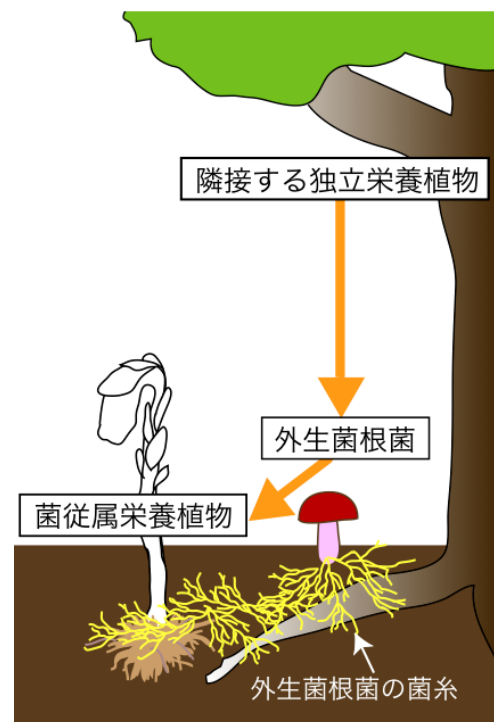


図 2 外生菌根菌との 3 者共生系。矢印は炭素の移動方向を示す

2-2. アーバスキュラー菌根菌との3者共生

ヒナノシャクジョウ科やホンゴウソウ科などにみられ、主にグロムス門のグロムス科（旧 *Glomus* group A）に属する菌根菌と共生するパターンである。一般に、AM菌と共生する独立栄養植物では植物1個体に複数の科にまたがる多数のAM菌が共生しているが、菌従属栄養植物ではグロムス科に属する特定のグループの菌と非常に特異的に共生している場合が多い（Bidartondo et al. 2002, Franke et al. 2006 ほか、ただし、最近では複数の科のAM菌と共生する例外も見つかっており（Merckx et al. 2012）、今後見解が変わる可能性がある）。外生菌根菌と同様に3者共生系を構築し、隣接する独立栄養植物から菌根菌を介して炭素をもらって暮らしている。他のパターンでは、光合成をやめる過程で、共生する菌が全く違う種類にすりかわってしまうことが多いが、本パターンでは、複数の異なる系統の共生パートナーの中からある特定の系統の菌のみと共生するように関係を絞り込んでいったと考えられている（Merckx & Bidartondo 2008）。

2-3. 腐生菌へのシフト

現在のところラン科でのみ発見されているシフトパターンで、木材や落葉落枝を分解する腐生菌類と共生している。先に紹介した2つのパターンでは、菌従属栄養植物は3者共生系によって生きた植物から炭素を搾取していたが、この場合は木材や落ち葉など植物の死骸を分解する菌から炭素をもらって暮らしている（図3）。つまり、菌従属栄養植物の周辺に転がっている倒木や落ち葉、枯れ枝が炭素源になっているのだ。外生菌根菌やAM菌との共生パターンは、どちらの菌も植物から取り出して菌を単独で培養することが難しいため、DNA情報を用いた分子同定法によってごく最近明らかになってきた共生系である。一方、腐生菌は比較的容易に培養できるため（第4章参照）、本共生パターンはかなり古い時代から認識されていた（Kusano 1911, Hamada 1939）。前述したようにラン科の多くはラン型菌根菌と共生していることから、光合成をやめる進化に伴って、共生する菌根菌はラン型菌根菌から木材腐朽菌や落葉分解菌へとシフトしたと考えられる。また、このようなシフトはラン科の中で独立に複数回起こったことがわかっている（Molvray et al. 2000）。

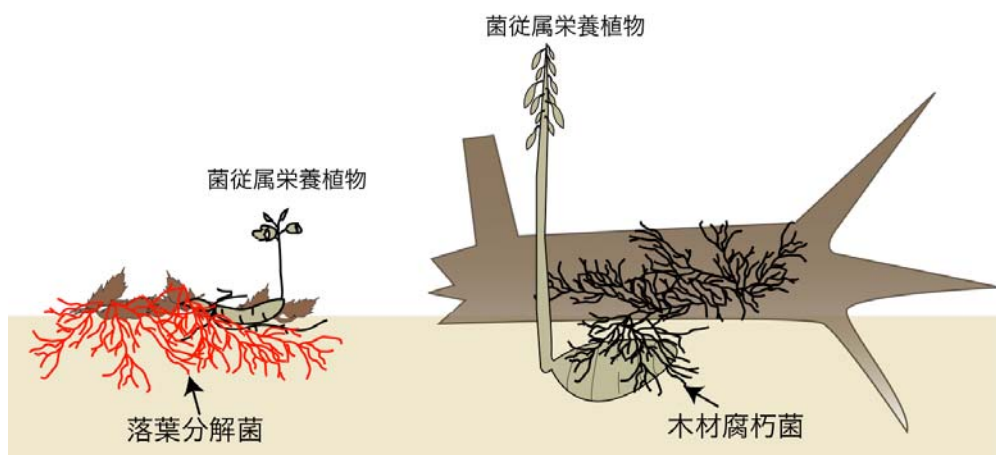


図3 木材腐朽菌や落葉分解菌と共生する菌従属栄養植物のモデル図

3. 菌従属栄養化へのステップ

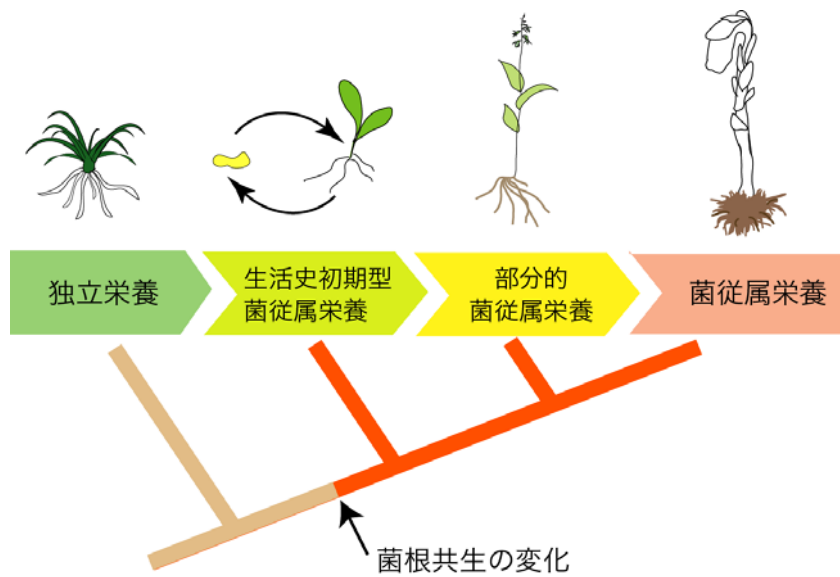


図4 菌従属栄養へのステップ (Merckx et al. 2013 を改変)

光合成をやめる進化の道のりは、1ステップの現象ではなく段階的で、いくつかの中間的なステージがあると考えられている。Merckx et al. (2013) では、次の中間的な2ステップをあげている (図4)。まずはじめに、種子や胞子の発芽時や実生・配偶体世代といった生活史の初期にのみ菌従属栄養というスタイルをとり、

成熟後は独立栄養である

「生活史初期型菌従属栄養」(initial mycoheterotrophy) へ移行する。次に、成熟した個体も菌根菌へ栄養を依存するようになるが、まだ光合成も行っている「部分的菌従属栄養」(partial myco-heterotrophy) のステップへ移り、ついには光合成をやめてしまう完全菌従属栄養 (full mycoheterotrophy) となる。これらはラン科をモデルに考えられたパターンであるが、おそらく他の系統でも同様のステップをへていると考えられる。では、前述したような菌根共生の特殊化は、どのステップでおこっているのだろうか。多くの場合、生活史初期型菌従属栄養や部分的菌従属栄養といった中間的なステップに突入した段階ですでにその特殊化がおこっている。つまり、すべての引き金は菌根共生の変化にあるのだ。

4. 菌根共生の変化過程を種分化のレベルで

光合成をやめる進化の道りで菌根菌との共生関係がどのように変化したのかを推定するためには、菌従属栄養植物とそれらに近縁な独立栄養植物の菌根菌を比較すればよい。このような比較研究は、ツツジ科を中心に数多く存在した (Bidartondo & Bruns 2002 ほか)。しかし、多くの菌従属栄養植物は、近縁な独立栄養植物といえども非常に縁が遠く (例えば、私達の身近に存在するギンリョウソウに最も近縁な独立栄養植物はドウダンツツジの仲間である)、両者を比較しても正確な変化過程を追うことは難しい。

私達は、ここ日本に奇跡的にごく近縁なグループ間で独立栄養種と菌従属栄養種が分化している植物群をモデルとして発見した。それは、ラン科シュンラン属 (*Cymbidium*) 植物である。これらは、花屋で見かけるシンビジウムの仲間、独立栄養種、部分的菌従属栄養種、菌従属栄養種のすべてを同一属内に含んでおり、近縁種間で栄養性が爆発的に多様化した植物群である。幸運なことに、この3つの栄養種はすべて日本に自生している。そこで、私達はこのシュンラン属をモデルに、植物の系統解析と菌根菌の調査を行った。

4-1. 植物の系統解析が物語る菌従属栄養化の道のり

植物の分子系統解析により、図5に示すようにシュンラン属はもともと樹上で暮らす着生の独立栄養種であり、その中から地面に降りて暮らすようになった地生の部分的菌従属栄養種が出現し、さらにその中から菌従属栄養であるマヤランとサ

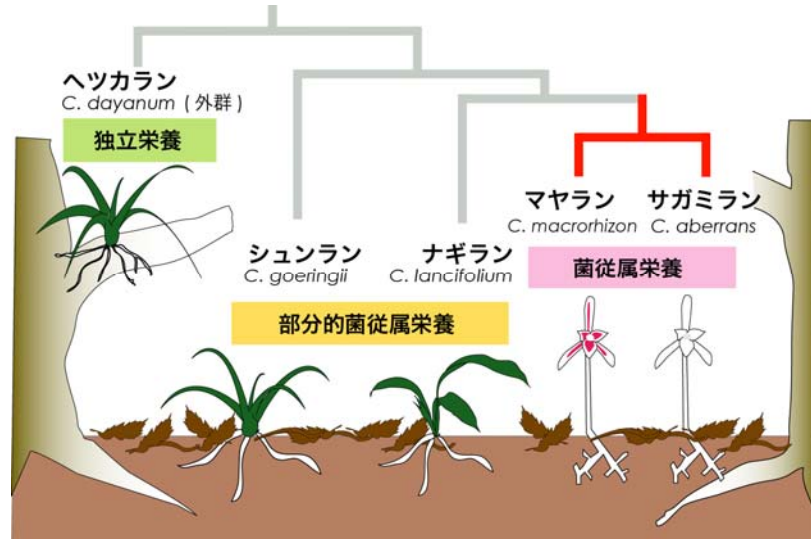


図5 調査したシュンラン属5種とそれらの類縁関係

ガミランの2種が出現したことが明らかになっている (Yukawa et al. 2002, Motomura et al. 2010; 図5)。つまり、シュンラン属では、独立栄養から部分的菌従属栄養という中間段階をへて菌従属栄養へと進化していたのである。またこの研究から、マヤランとサガミランはお互いに姉妹関係にあり、これら2種に最も近縁な光合成をする植物はナギランであることも明らかになった。

そこで私達は、図5にある5種の菌根菌を比較し、植物が独立栄養から部分的菌従属栄養をへて菌従属栄養へと進化していく過程で、菌根菌との共生関係がどのように変化していくのかを追うことにした。

4-2. シュンラン属でおこった菌根菌の変化

それぞれの種について複数の野生集団から、菌根菌が感染している根や地下茎を採集し、菌のDNA情報を利用した分子同定法によって菌の種類を特定した(図6; 詳しくは Ogura-Tsujita et al. 2012)。すると、見つかった菌は大きく2グループに分かれることがわかった。1つ目のグループは、多くのラン科植物が共生相手としているラン型菌根菌であり(以降Aグループと呼ぶ)、もう一つは、外生菌根菌のグループで、ベニタケ科やロウタケ科など主に樹木の主要な外生菌根菌として知られる菌類であった(以降Bグループと呼ぶ)。対象とした5種において、見つかった菌の内訳を調べたところ、独立栄養のヘツカランはAグループの菌のみと共生するが、部分的菌従属栄養の2種はAとB両方のグループと共生しており、菌従属栄養の2種はBグループのみと共生していることが明らかになった。すなわち、独立栄養→部分的菌従属栄養→菌従属栄養という栄養性の変化に伴い、菌根菌の種類がA→A+B→Bと変化しており、菌根菌の変化はAからBへ1ステップで変化するのではなくA+Bという中間段階をへて変化していたことがわかったのである。特に、部分的菌従属栄養種ナギランでの結果は興味深く、今回調査した2種の部分的菌従属栄養種のうち、菌従属栄養種に最も近縁な光合成種であるナギランは、もう一種の部分的菌従属栄養種であるシュンランよりもBグループへの依存度がずいぶん高かったのである(図6)。

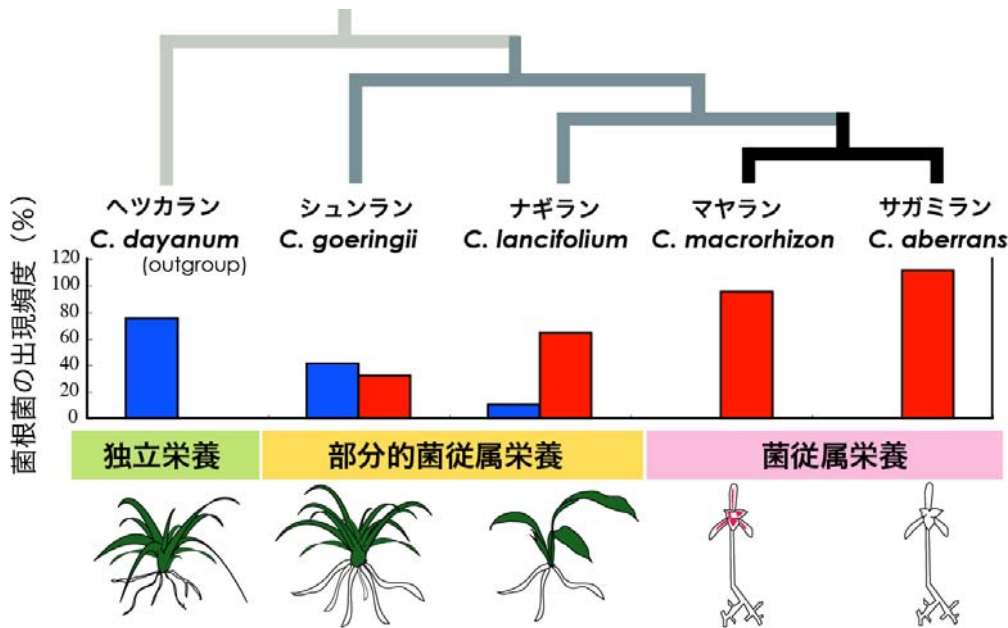


図6 調査したシュンラン属5種で見られた菌根菌の内訳。詳しくは Ogura-Tsujita et al. (2012)参照
つまり、A+B という中間段階においてもいろいろな段階があつて、進化の道のりの中で徐々に B への依存度を高めていったと考えられる。菌根菌が大きく変化する過程にこのような中間段階があつたことは本研究の大きな発見であり、このような中間型が菌根共生の特殊化に非常に大きな役割を果たしているに違いない。

その後、私達はシュンラン属の中で、光合成を行う独立栄養種のスルガランと、光合成をしない菌従属栄養種のマヤランの2種を交配し、雑種をつくることに成功した (Ogura-Tsujita et al. 2014)。両親の形質をあわせもつ雑種集団をうまく使うことによって、菌根菌の変化をはじめ、光合成をやめる進化の道のりにどのような遺伝子の変化があつたのかを調べることができる。現在、この雑種はフラスコの中で綺麗な花をさかせており (図7)、今後の展開が期待される。

5. 今後の展望

菌従属栄養植物にはまだまだ謎が多い。今も世界中で研究が進行しているが、大量の DNA 情報を短時間で解析できるシステムである次世代シーケンサーと、植物と菌根菌を一緒に試験管の中で培養する共生培養系を活用することによって、今後さらにももしろいことがわかりそうだ。菌従属栄養植物の共生相手である菌根菌は、どこでどのように暮



図7 試験管の中で花を咲かせる独立栄養種スルガランと菌従属栄養種マヤランの雑種 (写真提供; 鈴木和弘)

らしているのだろうか？菌根菌は主に地中で生育しているため、その分布や暮らしぶりはほとんど情報がないのが現状である。現在、次世代シーケンサーを使って、採取した土壌中にいるすべての菌類を調べ上げることが可能になってきた (Buée et al. 2009)。メタゲノムと呼ばれるこのような技術を使って、謎めいた菌根菌の生態の一端が明らかになってくるに違いない。また、次世代シーケンサーの技術を使えば、菌従属栄養植物と独立栄養植物のもつ長い長い DNA 情報を直接比較することも可能になる。このような比較研究によって、進化の道のりに伴って起こった様々な形質変化にどのような遺伝子が関わったのかが見えてくるはずだ。

次世代シーケンサーのような最新技術もさることながら、第4章で紹介されているような共生培養系も多くの謎を解決してくれるに違いない。通常、炭素は植物から菌根菌へ受け渡されるが、菌従属栄養植物では炭素の移動方向が逆転し、菌から植物へ移動する。この物質輸送の詳しいメカニズムの解明は、野外で行うのは非常に困難であり、共生培養系を用いた研究で明らかになってくるに違いない。また、このような培養系を使って、植物と菌との認識機構がどのように変化したのかなど生理的な現象を詳しく解明することができる。

光合成をやめる進化の道のりは、実に多様な形質の変化を伴う複雑な道のりである。植物が、なぜ？どうやって？光合成をやめたのか、その疑問に答えるためには、植物生理学、形態学、菌類学、生態学に系統分類学など、実に多様な学問をまたいで研究を行う必要がある。菌従属栄養植物の知名度はまだまだ低く、今後様々な分野の研究者が本植物に興味を持ち、多面的なアプローチで進化の道のりが解明されて行くことを期待したい。また、菌に頼る生き方ゆえ、菌従属栄養植物は環境の変化に非常に弱く、多くの種が絶滅の危機に瀕している。現在は彼らを守るべきがほとんどないため、世界の各所でひっそりと姿を消しているのが現状だ。今後の研究成果によって、本植物を保全する道が開かれることを願ってやまない。

謝辞

本稿で紹介した研究の一部は日本学術振興会・科学研究費補助金 (21370038, 24370040, 2440185) の助成を受けて行われた。本研究を遂行するにあたりご指導いただいた先生方、サンプル採集にご協力いただいた皆様に厚く御礼申し上げます。また、本稿執筆にあたりコケ植物の系統についてご助言いただいた榊原恵子氏に深謝する。

引用文献

- Abe, J.P. 2005. An arbuscular mycorrhizal genus in the Ericaceae. Abstracts of the Mycological Society of America/ the Mycological Society of Japan Joint Meeting 2005, Hilo, Hawaii.
- Bidartondo, M.I., Redecker, D., Hijri, I., Wiemken, A., Bruns, T.D., Dominguez, L., Sersic, A., Leake, J.R., & Read, D.J. 2002. Epiparasitic plants specialized on arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 419: 389-392.
- Bidartondo, M.I., & Bruns, T.D. 2002. Fine-level mycorrhizal specificity in the Monotropoideae (Ericaceae): specificity for fungal species groups. *Mol. Eco.* 11: 557-569.
- Bidartondo, M.I. 2005. The evolutionary ecology of myco-heterotrophy. *New Phytol.* 167: 335-352.

- Bidartondo, M.I., Bruns, T.D., Weiss, M., Se'rgio, C., & Read, D.J. 2003. Specialized cheating of the ectomycorrhizal symbiosis by an epiparasitic liverwort. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 835-842.
- Buée, M., Reich, M., Murat, C., Morin, E., Nilsson, R.H., Uroz, S., & Martin, F. 2009. 454 pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytol.* 184: 449-456.
- Cullings, K.W., Szaro, T.M., & Bruns, T.D. 1996. Evolution of extreme specialization within a lineage of ectomycorrhizal epiparasites. *Nature* 379: 63-66.
- Davis, E.C. 2004. A molecular phylogeny of leafy liverworts (Jungermanniidae: Marchantiophyta). In: Goffinet, B., Hollowell, V., & Magill, M.R. (eds.) *Molecular Systematics of Bryophytes (MSB 98)*. pp. 61-86. Missouri Botanical Garden, St. Louis, MO, USA.
- Franke, T., Beenken, L., Döring, M., Kocyan, A., & Agerer, R. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi of the *Glomus*-group A lineage (Glomerales; Glomeromycota) detected in mycoheterotrophic plants from tropical Africa. *Mycol. Prog.* 5: 24-31.
- Hamada, M. 1939. Studien über die Mykorrhiza von *Galeola septentrionalis* Reichb. f. Ein neuer Fall der Mykorrhiza-Bildung durch intraradicale Rhizomorpha. *Jpn. J. Bot.* 10: 151-211.
- Kottke, I., & Nebel, M. 2005. The evolution of mycorrhiza-like associations in liverworts: an update. *New Phytol.* 167: 330-334.
- Kusano, S. 1911. *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea*. *J. Coll. Agric. Univ. Tokyo* 4: 1-66.
- Merckx, V., & Bidartondo, M.I. 2008. Breakdown and delayed cospeciation in the arbuscular mycorrhizal mutualism. *Proc. R. Soc. B.* 275: 1029-1035.
- Merckx, V., Janssens, S.B., Hynson, N.A., Specht, C.D., Bruns, T.D., & Smets, E.F. 2012. Mycoheterotrophic interactions are not limited to a narrow phylogenetic range of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mol. Ecol.* 21: 1524-1532.
- Merckx, V.S.F.T., Mennes, C.B., Peay, K.G., & Geml, J. 2013. Evolution and diversification. In: Merckx, V.S.F.T. (ed) *Mycoheterotrophy: the biology of plants living on fungi*. pp. 215-244. Springer, New York.
- Molvray, M., Kores, P.J., & Chase, M.W. 2000. Polyphyly of mycoheterotrophic orchids and functional influences on floral and molecular characters. In: Wilson, K.L. & Morrison, D.A. (eds.) *Monocots: systematics and evolution*. pp. 441-448. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation Publishing, Melbourne, Australia.
- Motomura, H., Selosse, M.A., Martos, F., Kagawa, A., & Yukawa, T. 2010. Mycoheterotrophy evolved from mixotrophic ancestors: Evidence in *Cymbidium* (Orchidaceae). *Ann. Bot.* 106: 573-581.
- Obase, K., Matsuda, Y., & Ito, S. 2013. *Enkianthus campanulatus* (Ericaceae) is commonly associated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 23: 199-208.
- Ogura-Tsujita, Y., Yokoyama, J., Miyoshi, K., & Yukawa, T. 2012. Shifts in mycorrhizal fungi during the evolution of autotrophy to mycoheterotrophy in *Cymbidium* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 99: 1158-1176.
- Ogura-Tsujita, Y., Miyoshi, K., Tsutsumi, C., & Yukawa, T. 2014. First flowering hybrid between autotrophic and mycoheterotrophic plant species: breakthrough in molecular biology of mycoheterotrophy. *J. Plant Res.* 127: 299-305.

- Selosse, M.A., Weiß, M., Jany, J.L., & Tillier, A. 2002. Communities and populations of sebacinoïd basidiomycetes associated with the achlorophyllous orchid *Neottia nidus-avis* (L.) L.C.M. Rich. and neighbouring tree ectomycorrhizae. *Mol. Ecol.* 11: 1831-1844.
- Selosse, M.A., & Roy, M. 2009. Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. *Trends Plant Sci.* 14: 64-70.
- 嶋村正樹 2012. コケ植物. 戸部 博・田村 実 (編) 新しい植物分類学II. pp. 1-12. 講談社. 東京.
- Smith, S.E., & Read, D.J. 2008. Mycorrhizal symbiosis, third edition, Academic press, San Diego.
- Taylor, D.L., & Bruns, T.D. 1997. Independent, specialized invasions of ectomycorrhizal mutualism by two nonphotosynthetic orchids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 4510-4515.
- Waterman, R.J., Klooster, M.R., Hentrich, H., & Bidartondo, M.I. 2013. In: Merckx, V.S.F.T. (ed) Mycoheterotrophy: the biology of plants living on fungi. pp. 267-296. Springer, New York.
- Yukawa, T., Miyoshi, K., & Yokohama, J. 2002. Molecular phylogeny and character evolution of *Cymbidium* (Orchidaceae). *Bull. Natl. Sci. Mus. Tokyo* 28: 129-139.
- Yukawa, T., Ogura-Tsujita, Y., Shefferson, R.P., & Yokoyama, J. 2009. Mycorrhizal diversity in *Apostasia* (Orchidaceae) indicates the origin and evolution of orchid mycorrhiza. *Am. J. Bot.* 96: 1997-2009.