

令和 2 年 5 月 31 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05786

研究課題名(和文)イボタケ類菌糸マットによる北方林のポドゾル形成の検証とその微生物群集の機能性解析

研究課題名(英文) Role of *Hydnellum ferrugineum* hyphal mat in promoting podzolization in boreal forests and functional analysis of its microbial communities

研究代表者

宮本 敏澄 (Miyamoto, Toshizumi)

北海道大学・農学研究院・講師

研究者番号：00343012

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：北方針葉樹林のポドゾル形成のメカニズムについては100年単位の長期間をかけて引き起こされると説明されてきた。一方で、*Hydnellum ferrugineum*の形成する菌糸マットの直下の土壌でポドゾル化が急激に進む現象が知られている。本研究では、その菌糸マットの拡大・衰退がポドゾル化作用や、土壌中の微生物群集とその機能に与える影響を調査した。その結果、菌糸マットは微生物群集や土壌有機物の分解プロセスや植生に影響を与えつつポドゾル化作用を促進することが明らかになった。さらに菌糸マットは衰退あるいは消失しても、植生と土壌中の安定同位体比や微生物群集に影響が残るものと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

北方針葉樹林のポドゾル形成のメカニズムについては100年単位の長期間をかけて引き起こされると説明されてきた。一方で、*Hydnellum ferrugineum*の形成する菌糸マットの直下の土壌でポドゾル化が急激に進む現象が知られている。本研究では、その菌糸マットの拡大・衰退がポドゾル化作用や、土壌中の微生物群集とその機能に与える影響を調査した。その結果、菌糸マットは微生物群集や土壌有機物の分解プロセスや植生に影響を与えつつポドゾル化作用を促進することが明らかになった。さらに菌糸マットは衰退あるいは消失しても、植生と土壌中の安定同位体比や微生物群集に影響が残るものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：The formation of podzol in boreal forests has been attributed to the accumulation of organic acids produced during decomposition of soil organic matter; this process takes place over long periods of time, often over a 100 years. In contrast, podzolization can progress rapidly in the soil found immediately beneath a hyphal mat formed by the fungus *Hydnellum ferrugineum*. In this study, we explored the impact of the expansion and decline of a *H. ferrugineum* hyphal mat on podzolization; we also explored the components and function of the microbial community in the soil. Our results showed that the hyphal mat promotes podzolization and affects the soil microbial community, decomposition of soil organic matter, and characteristics of the local vegetation. We also found that that decline or disappearance of the hyphal mat affects the soil microbial community, the ratio of stable N isotopes in the soil, and the characteristics of the local vegetation.

研究分野：菌類生態学

キーワード：ポドゾル 北方針葉樹林 イボタケ類 菌糸マット 土壌微生物群集

1. 研究開始当初の背景

北方針葉樹林の面積は5億 ha に達し、地球上の森林の総面積の約10%を占める。その土壤にはポドゾルが特徴的に発達し極めて貧栄養状態にある酸性土壤となる。このためマツ属などの低栄養要求性度の針葉樹種が優占する。したがって、北方針葉樹林とポドゾルは相互に正のフィードバックとして影響しあう関係にある。しかしながら、100年を要するとされるポドゾル形成のメカニズムについては十分に解明されておらず、どのような微生物群集構造が関与し、それがどのような機能を発揮するのかについては未解明な点が多い。北方針葉樹林の成立・維持機構を解明する上でも微生物によるポドゾル形成メカニズムを明らかにする必要がある。

担子菌イボタケ類の1種で、マツなどの針葉樹林に生息することが知られている *Hydnellum ferrugineum* の菌糸体は土壤の腐植層中に、大きなものでは直径が数 m のマット状に広がっている。菌糸マットが存在すると周辺と明瞭に植生が変化する。すなわちスノキの仲間等が減少し、コケ類や地衣類が優占するようになる。既に約50年前、この菌糸マットの直下でポドゾル化が急激に進む現象がフィンランドの針葉樹林において Hintikka と Näykki によって見出され、報告されている(1967)が、その後ほとんど注目されることがなかった。本菌はマツ属やトウヒ属を主体とする針葉樹林において、主にマツ属の樹木と特異的に共生する菌根菌であると見なされているが、その菌糸マット内の微生物群集構造や生態的な働きについては依然として未解明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、菌糸マット直下に極めて速くポドゾルを形成する *Hydnellum ferrugineum* に着目し、その菌糸マットによって維持される微生物群集とそれらのポドゾル形成機能を明らかにする。さらに、北方林における *H. ferrugineum* の菌糸マット(以下「菌糸マット」と呼ぶ)の拡大・衰退がポドゾル化作用に与える影響を検証する。

3. 研究の方法

(1) 固定調査地の設定

フィンランド東部でヨーロッパアカマツとヨーロッパトウヒを主体とした天然林サイトに固定調査地を設置した。

(2) 菌糸マットの拡大成長速度

菌糸マットの輪郭は、スノキの仲間などのヒースに乏しくコケ・地衣類の広がる円形から不定形の植生パッチ(以下「植生パッチ」と呼ぶ)の輪郭と一致することが多く、5つの菌糸マット位置を記録した。それぞれに土壤中の温度測定を行うためにデータロガーを設置した。また菌糸マットの先端部の位置変化を経時的に調べるために、2017年9月に5つの菌糸マット周

縁部の合計 25 地点にマーキングの杭打ちを行った。その後 2018 年、2019 年の 9 月に合計 2 回にわたり、菌糸マット縁部の位置を測定した。

(3) 菌糸マットの消長と土壌のポドゾル化現象の変化

コケ・地衣類の広がる植生パッチの 1 つの広がり（直径約数 m）について、表層の土壌有機物層を剥がし、菌糸マットが存在する箇所と、存在しない箇所をそれぞれ 5 箇所ずつ探し出した。後者は、かつては菌糸マットが存在することで植生をコケ・地衣類へ変化させたが、その後菌糸マットがなんらかの理由で消滅したと推定される。そこで、コケ・地衣類の広がる植生パッチの地下に菌糸マットが存在する場合に、(A)：菌糸マットの縁部から内側へ 50–100 cm の箇所、(B)：菌糸マットの縁部、(C)：植生パッチの外側、の 3 地点について、また菌糸マットが存在しない場合に、(D)：植生パッチの縁部から内側へ 50–100 cm の箇所、(E)：植生パッチの縁部、(F)：植生パッチの縁部から外側へ 50–100 cm の箇所、の 3 地点について土壌断面調査と菌糸マットあるいは有機物層、その直下の鉱質土層の土壌のサンプリングを行った。*H. ferrugineum* の N の利用プロセスの特性から土壌中の N の安定同位体比に与える影響を明らかにするため、鉱質土層土壌、各種菌類の子実体、菌糸マット、について N の安定同位体比を測定した。

(4) 菌糸マットの微生物群集と分離菌株のポドゾル形成機能

スウェーデンの森林で採取した *H. ferrugineum* 菌糸マットとその直下土壌およびマット周辺の直下土壌から DNA を回収し、DGGE により真菌類および細菌類の組成を調べた。また菌糸マット直下の鉱質土層の土壌より細菌類の分離を試みた。

(5) 菌糸マットの消長が微生物群集へ与える影響

フィンランドの固定調査地で、(A)：菌糸マットの縁部から内側へ 50–100 cm の箇所、また菌糸マットが存在しない場合に、(D)：植生パッチの縁部から内側へ 50–100 cm の箇所、(F)：植生パッチの縁部から外側へ 50–100 cm の箇所、の 3 地点から採集した菌糸マットあるいは有機物層とその直下の鉱質土層から DNA を抽出した。得られた DNA から 16S 領域をターゲットにしたプライマーで PCR 増幅し、バーコード付きのプライマーでさらに PCR 増幅を行った。PCR 産物は濃度調整後に Illumina MiSeq により解析した。得られたデータは Mothur で解析した。

4. 研究成果

(1) 菌糸マットの拡大成長速度

2017 年から 2018 年までの 1 年間に、菌糸マットの中心方向から外側へ平均 2 cm ($n = 23$) の拡大が認められた。その後、2018 年から 2019 年までの 1 年間では平均 -1.9 cm ($n = 23$) と菌糸マットの衰退が認められた。最も縮小した地点は -17 cm に達した。過去の報告では林齢と菌糸マットの直径の相関関係より年間 2–3 cm の菌糸マット拡大を推定している (Hintikka ·

Näykki1967)。今回の調査結果も1年目はこれとほぼ同じ長さの拡大となったが、2年目には衰退に転じた。2018年6月から8月にかけては北欧で例年よりも異常に高い気温を記録した(気象庁)。そのためか、2016年までは調査地内で多数認められた *H. ferrugineum* の子実体が2018年から2019年にはほとんど発見できなかった。このため、地表土壌温度の上昇が菌糸マットの活性や成長に負の影響をもたらした可能性が考えられた。

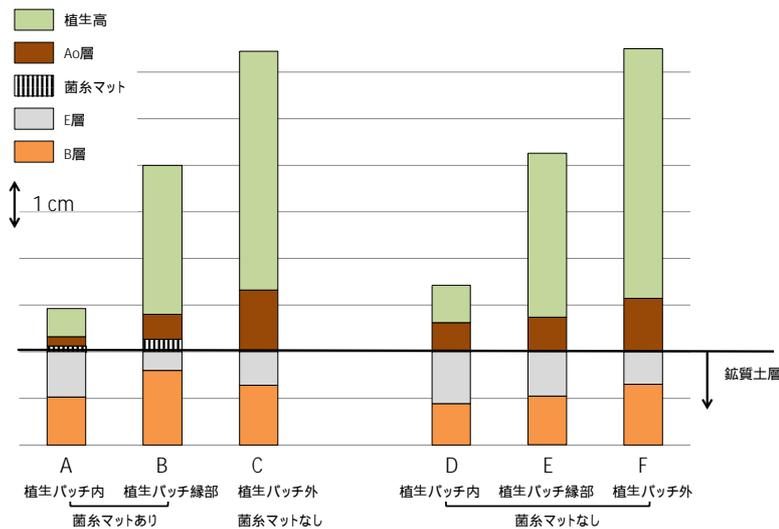


図-1. 菌糸マットの有無による植生パッチ内の植生高と土壌断面の違い

最も厚くなる傾向が認められた。逆に、有機物層は植生パッチ内で薄くなり、(A)すなわち菌糸マットの内側では最も薄くなった。E層の色を比較すると、(A)および(D)は最も白色に近い灰色で、植生パッチの縁部から外側では灰色あるいは茶色を帯びていた。さらに(A)は(D)よりも白色に近く、(D)は時に薄く茶色を帯びていた。この結果から、菌糸マットの存在により土壌有機物の分

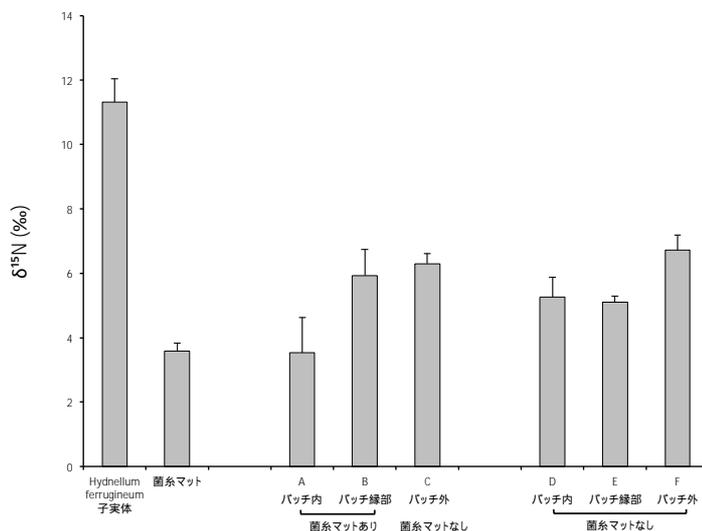


図-2. 菌糸マットの有無によるの土壌中の窒素安定同位体比の違い

(2) 菌糸マットの成長とポドゾル化現象の変化および土壌有機物への影響

図-1. は菌糸マットの有無による植生パッチ内の植生高と土壌断面の観察結果を示す。E層の厚さについて比較すると、(A)および(D)すなわち植生パッチ内で最

解が進むと同時に土壌のポドゾル化作用が促進されること、さらに菌糸マットが消失した後は土壌のポドゾル化作用が弱くなってゆくと考えられた。上述の菌糸マット周縁部の拡大速度や消長を鑑みて、植生への影響すなわちス

ノキの仲間の減少とコケ・地衣類の広がる植生への変化や E 層の発達には数年の短い時間で進行し、その後に元の植生や土壌に戻るのにはしばらく時間を要するものと推察された。

N の安定同位体比の測定結果を図-2 に示す。*H. ferrugineum* の $\delta^{15}\text{N}$ は他の菌根性の菌の子実体と同様に腐生性の菌の子実体と比べて高い値を示した。このことから、*H. ferrugineum* はリターなどを分解利用する腐生菌よりも菌根性の性質を備えた菌であることが推察された。一方で *H. ferrugineum* 菌系マットは子実体より低い値を示した。また、菌系マットが存在しない場所の鉍質土層土壌よりも菌系マット直下の鉍質土層土壌 (A) は低い値を示した。植生パッチの菌系マットが存在しない場所の鉍質土層土壌 (D) および (E) でもその傾向が認められたことから、菌系マットが消失してからもその影響はしばらく残るものと考えられる。これらの結果をもたらずプロセス解明は今後の課題であるが、菌系マットの存在が土壌中の N の安定同位体比に強く影響することが明らかにされた。

(3) 分離菌株のポドゾル形成機能と菌系マットの消長が微生物群集へ与える影響

菌系マット内とその外側の真菌類群集の比較解析を行った結果、菌系マット内からは *H. ferrugineum* の DNA が検出され、厚く発達した菌系マットの形成には本菌の菌系が関わっていることが示された。この菌系マットの縁部の直下の鉍質土層からは、シュウ酸資化性細菌として鉍物溶解能が高いとされる *Collimonas* sp. が分離された。このことから、菌系マット直下の鉍質土層にポドゾル化を引き起こしているのは、*H. ferrugineum* の他にも共在する微生物が関与している可能性が示された。

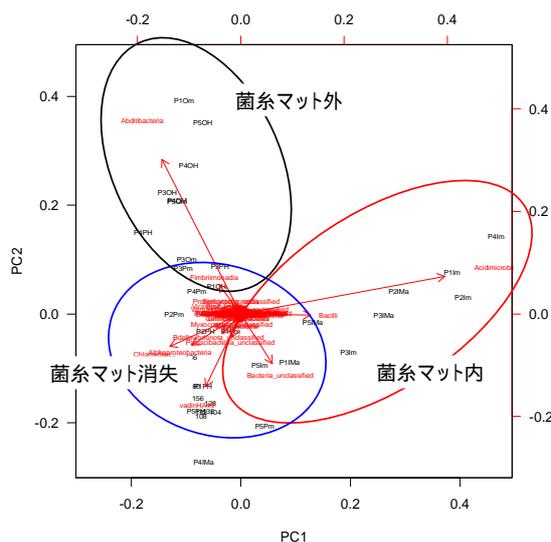


図-3. 菌系マットの有無による土壌中の細菌群集の比較

菌系マットの存在とその消長が細菌群集に与える影響について PCA 解析を行った結果を図-3 に示す。酸性環境でよく生育する *Acidimicrobium* と *Bacilli* は菌系マット内に特徴的に現れるグループであると考えられた。この結果から、*H. ferrugineum* の菌系マットの存在下では pH が低下

し、こうした環境に応じて特異な微生物群集が形成されているものと推察された。さらに、菌系マットが消失してから微生物群集は変化するが、元の群集構造に戻るにはある程度の時間を要するものと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 磯田玲華・宮本敏澄・阿部 碧・原新太郎・Olle Zackrisson・橋床泰之 |
| 2. 発表標題 オオサビハリタケ菌系マット直下の土壤微生物群集は北方圏針葉樹林林床でのポドゾル形成に関与しているか? |
| 3. 学会等名 日本土壌肥料学会大会. |
| 4. 発表年 2016年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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 |
|-------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 橋床 泰之 (Hashidoko Yasuyuki) (40281795) | 北海道大学・農学研究院・教授 (10101) | |