

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21570013

研究課題名（和文） 冷温帯林における積雪下でのリター分解菌類群集の組成とその分解酵素活性

研究課題名（英文） Composition of litter-decomposing fungal community under snow cover in a cool-temperate forest and their extracellular enzyme activity

研究代表者

宮本 敏澄 (MIYAMOTO TOSHIZUMI)

北海道大学・大学院農学研究院・講師

研究者番号：00343012

研究成果の概要（和文）：北海道の森林において、積雪下におけるリター（落葉）分解とリター分解菌類相を調べ、低温下における菌類の分解酵素活性を調べた。リターは積雪下でも重量減少が起こり、その間に特有の菌類の出現あるいは増加がみられた。積雪下のリターから分離された菌には 0 °C において菌糸を伸長させ、リグニン分解能力を示すものが存在した。こうした菌類は積雪下のリター葉分解に大きく寄与しているものと考えられた。

研究成果の概要（英文）：We investigated the decomposition of leaf litter and the composition of litter-decomposing fungal community under snow cover in some forest stands in Hokkaido, and their extracellular enzyme productivity at low temperature. It was observed that while the oak and fir foliage litter lost their original weight under snow during the winter season, some fungi appeared or increased the frequency. Some fungi isolated from oak litter were found to extend the mycelia on the media and indicated ligninolytic activity at 0 °C. These results suggest that some litter-decomposing fungi, which have potential ability to degrade lignin at 0 °C, significantly contribute the litter decomposition under snow cover.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2009 年度 | 2,300,000 | 690,000 | 2,990,000 |
| 2010 年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 2011 年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,800,000 | 1,140,000 | 4,940,000 |

研究分野：生態・環境

科研費の分科・細目：基礎生物学・群集

キーワード：リター分解、菌類群集、低温、積雪、分解酵素

1. 研究開始当初の背景

冷温帯の森林における冬期のリター分解は、夏期と比べて低温により分解者の活性が低下することから、これまでの研究では重視されてこなかった。ところが、多雪地でのリター分解速度は意外に速く、分解者の活性が高いことも明らかにされてきている。

これは、断熱材として気温を遮断するのに十分な積雪深があれば雪の下の地表面は凍結せ

ずにほぼ 0 °C で湿潤な状態が維持されるため、こうした条件でも分解活動を行う菌類が存在することを示唆している。Nature で Monsonら (2006) は、積雪深が小さい年は大きな年よりも冬期の土壌からの CO₂ の放出量が減少する現象を明らかにした。さらに断熱材となる積雪の深さの違いで、低温下に特有の土壌微生物群集の活性すなわち土壌呼吸速度が非常に敏感に影響を受け変化することを明らかにし

た。このことから彼らは、気候の温暖化により積雪深が変化した場合、土壤有機物の分解者の活性が影響を受けて土壤の炭素シンクとしての効果が変わってしまう可能性がある」と指摘して大きな注目を集めた。気候変化による冷温帯林の冬期の土壤呼吸速度や物質循環への影響を予測してゆくうえで、冬期のリター分解現象をメカニズムから解明する必要がある。そのためには分解者の組成と生理的性質および分解者の環境変化への応答についての情報が不可欠であるが、そもそもこれまでの研究では冬期の積雪下での分解者についての調査は不十分である。

2. 研究の目的

本研究では、低温下に特有の土壤微生物群集のなかでも重要なリター分解に関わる菌類はどのような種によって構成されるのか、また低温に適応した生長特性や分解酵素の特性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 冷温帯林の広がる北海道で断熱材である積雪の深さが異なる調査地を4カ所：北海道大学雨竜地方研究林（母子里）、小樽市朝里（朝里）、北海道大学苫小牧地方研究林（苫小牧）、九州大学北海道演習林（足寄）に選定した。北海道ではミズナラとトドマツを主体とする天然林が広く分布していることから、調査を行う森林の植生はミズナラ・トドマツ混交林として統一した。各調査地では地表温度と積雪深、土壤凍結深の測定を行なった。各調査地にはミズナラとトドマツのリターバッグを10月に林床に設置して2ヶ月後、5ヶ月後にあたる12月と3月に雪を掘り起こして回収した。6月にも同様にリターバッグを設置して8月と11月に回収した。回収したリターについては重量、全窒素、クラウン法によるリグニン様物質の測定を行なった。リターから分離された菌について、培養特性や核 rDNA の ITS 領域の塩基配列解析によって分類した。

(2) 母子里では5月に深さ20～50cmの雪の下から林床のミズナラ落葉を採集し、漂白部分と非漂白部分にわけて菌の分離を行った。リグニン分解能力について明らかにするために、0℃の条件でグアヤコール添加ミズナラ落葉粉・寒天培地で培養し、生長した菌糸の周囲の変色によってフェノールオキシダーゼの産生能を判定した。

4. 研究成果

(1) 各調査地の積雪深は、母子里が最も大きく3月には約2mに達した。次いで朝里、足寄、苫小牧の順に積雪は少なくなった。母子里、朝里では積雪開始直後を除いて土壤凍結はほとんど認められなかったが、足寄と苫

小牧では地表面から最大約20cmの深さまで凍結した。（図1）。林床表面の温度については、積雪深が大きい調査地では氷点下にならず0℃近くで安定している期間が長く、積雪深が小さい調査地では氷点下に度々下がった（図2）。

各調査地のリター分解については、夏期に比べて冬期の分解率は低いものの5ヶ月間で12.4～18.6%（ミズナラ）、13.2～18.7%（トドマツ）の重量が減少した。冬期に0℃で安定した期間が長かった母子里で最も高く、氷点下に度々下がった苫小牧で最も低い分解率を示した（図3）。クラウン法によるリグニン分析の結果、12月にはリグニン様物質の増加が認められ、3月には減少に向かった（図4）。分解初期におけるリター内の全窒素の増加は菌類のバイオマス増加に大きく影響を受けることが知られている。多雪地で冬期にリター分解率が比較的高かった母子里と朝里においては全窒素の増加率が高く、菌類のバイオマスが増加した事を示している（図5）。

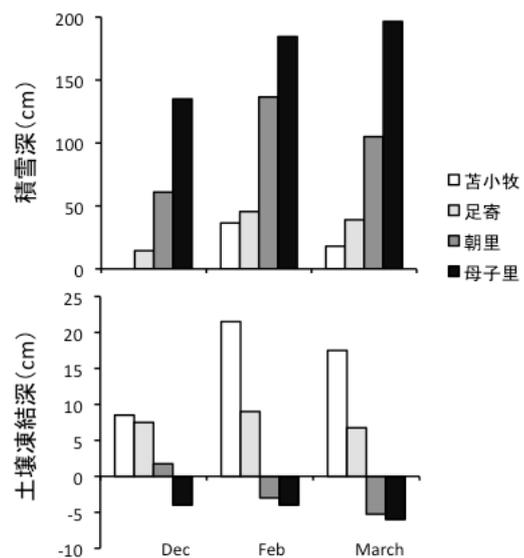


図1 調査地の積雪深と土壤凍結深

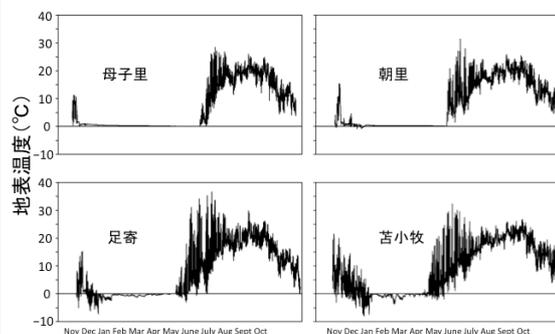


図2 各調査地の地表温度

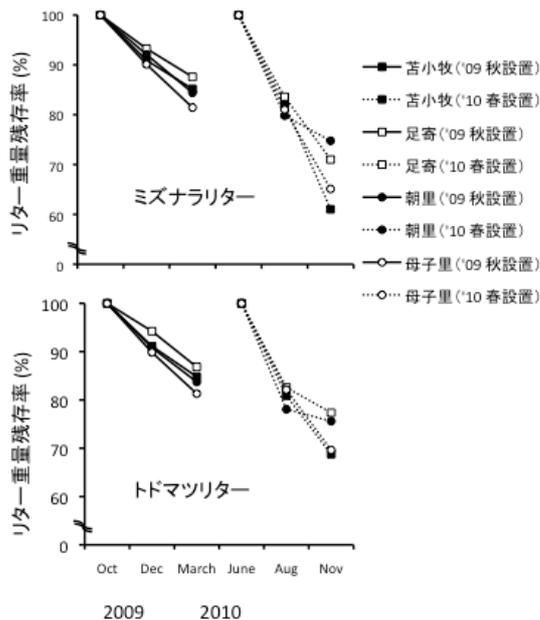


図3 各調査地における冬期と夏期のミズナラとトドマツリターの分解

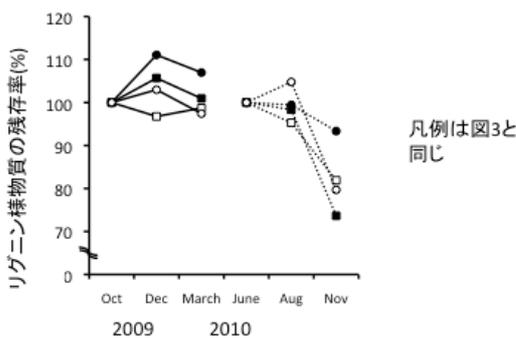


図4 各調査地におけるミズナラリターのリグニン様物質総量の変化

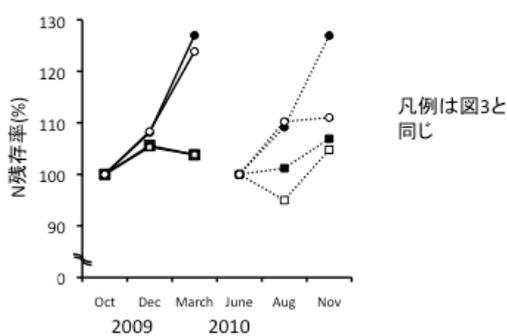


図5 各調査地におけるミズナラリターの全窒素量の変化

ミズナラとトドマツのリターから得られた分離菌株の合計数は、12月には259分離株、3月には326分離株と積雪期間中に増加した。出現した菌の種については分生子を形成しないものが多く、DNA解析によっても種の同定が困難なものがほとんどであったことから、さらに精査してゆく必要がある。暫定的

表1 積雪下のミズナラ落葉から分離された主な菌の出現頻度(%)と0°Cにおけるフェノールオキシダーゼ産生能の有無

| 菌 | 非漂白部分 | 漂白部分 | フェノールオキシダーゼ産生能 |
|------------------------|-------|------|----------------|
| 担子菌 | | | |
| <i>Mycena</i> sp. | 3 | 0 | + |
| Basidiomycota sp. | 16 | 0 | - |
| <i>Typhula</i> sp. | 14 | 0 | - |
| <i>Marasmius</i> sp. | 1 | 4 | - |
| その他3種 | 3 | 0 | - |
| 子の菌 | | | |
| <i>Coccomyces</i> sp.1 | 0 | 23 | + |
| <i>Coccomyces</i> sp.2 | 0 | 2 | + |
| Leotiomycete sp.1 | 10 | 1 | + |
| Leotiomycete sp.2 | 4 | 1 | + |
| Leotiomycete sp.3 | 5 | 0 | + |
| その他6種 | 7 | 3 | + |
| <i>Xylaria</i> sp. | 9 | 12 | - |
| Leotiomycete sp.4 | 4 | 8 | - |
| Leotiomycete sp.5 | 4 | 4 | - |
| Leotiomycete sp.6 | 0 | 8 | - |
| その他13種 | 16 | 3 | - |

な種数を比較すると12月では32種で3月は70種と増加した。このうち共通種は10種程度であったことから、徐々に冬期に特有の菌類相が形成されていったことが示唆された。また、3月に出現した菌の種数は母子里と朝里の多雪地域での合計と苦小牧、足寄の小雪地域での合計がそれぞれ47種、23種となり、土壌凍結が頻繁に起こる環境よりも0°Cで安定した環境のほうが多くの菌にとって好ましいことがうかがえる。

(2) 母子里において5月に積雪下より採集したミズナラリターから得られた菌は計165分離株となり、子の菌類に属する28種と担子菌類に属する8種に分類された。このうち子の菌類に属する11種と担子菌類に属する1種について0°Cにおいて培地上に菌糸を伸長させ、リグニン分解に関わる酵素の一つであるフェノールオキシダーゼの産生能が認められた(表1)。葉のリグニン様物質の分解に伴って引き起こされたと推定された漂白部分と、リグニン様物質の分解が進んでいないと推定された非漂白部分のそれぞれから分離された菌の種構成とフェノールオキシダーゼの産生能を比較したところ、漂白部分から分離された菌の50%の種が、また非漂白部分では30%の種がフェノールオキシダーゼの産生能を備えていた。担子菌類は非漂白部分からの分離頻度が高く、フェノールオキシダーゼの産生能を持つものは*Mycena*属の一種のみであった。子の菌類は漂白・非漂白部分のどちらからも分離される種が多く、出現した全種のうち39%にあたる多くの種がフェノールオキシダーゼの産生能を備えていた。

以上のことから積雪が多い地域では土壌凍結が起こりにくいことにより、リター分解菌の多様性が高く、積雪環境に適応した多くの菌が生息可能であることが分かった。またこれまでに報告されていなかった0°C条件においてもリグニン分解に関与する酵素を生

産する能力を備えるリター分解菌の存在が明らかにされた。こうした菌類が積雪下のリター葉分解に大きく寄与しているものと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

①Fumito Sasaki・Toshizumi Miyamoto・Aki Yamamoto・Yutaka Tamai・Takashi Yajima, Relationship between intraspecific variations and host insects of *Ophiocordyceps nutans* collected in Japan, *Mycoscience* 53: 85-91, 2012. (査読あり)

②Ryo Asai, Shinya Mitsuhashi, Kengo Shigetomi, and Toshizumi Miyamoto and Makoto Ubukata. Absolute configurations of (-)-hirsutanol A and (-)-hirsutanol C produced by *Gloeostereum incarnatum*, *Journal of Antibiotics* 64, 693-696, 2011. (査読あり)

③Maria Catarina Megumi Kasuya, Irene da Silva Coelho, Daniela Tiago da Silva Campos, Elza Fernandes de Araújo, Yutaka Tamai & Toshizumi Miyamoto, Morphological and molecular characterization of *Pisolithus* in soil under Eucalyptus plantations in Brazil. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* 34: 1891-1898, 2010. (査読あり)

[学会発表] (計 4 件)

①八十島大輔・宮本敏澄・尾張敏章・玉井裕・矢島崇. 暗色雪腐病菌のエゾマツ種子への感染時期と種子活性率の変化. 第 60 回北方森林学会大会 (ポスター発表). 2011 年 11 月 15 日. 札幌.

②宮本敏澄. 北海道の森林でみられたクヌギタケ属の数種の菌について. 日本菌学会菌類観察会. 2011 年 9 月 11 日. 札幌.

③橋本俊一・宮本敏澄・玉井裕・矢島崇. 風倒木処理地におけるトドマツ材の分解. 第 59 回日本森林学会北海道支部大会 (ポスター発表). 2010 年 11 月 9 日. 札幌.

④宮本敏澄. 幸田圭一. 積雪下のリター分解に関わる菌類とその phenoleoxidase の産生能. 日本菌学会第 54 回大会 (ポスター発表). 2010 年 5 月 30 日. 東京都.

[図書] (計 2 件)

①宮本敏澄. 暗色雪腐病菌による更新阻害. 北海道の森林. 北海道新聞社. 2011. pp.56-60.

②宮本敏澄. 雪の下でも種子・芽生えは病原菌に狙われている?. 北の森づくり Q&A. 北方林業会. 2009. pp.66-67.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮本 敏澄 (Miyamoto Toshizumi)
北海道大学・大学院農学研究院・講師
研究者番号: 00343012

(2) 研究分担者

幸田 圭一 (Kouda Keiichi)
北海道大学・大学院農学研究院・講師
研究者番号: 80322840

(3) 連携研究者

()

研究者番号: