

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14750

研究課題名(和文) 林床植物を支える土壤微生物環境の解明

研究課題名(英文) Evaluating soil microbial environments required by forest floor plants

研究代表者

奈良 一秀 (Nara, Kazuhide)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：60270899

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：亜高山帯針葉樹林や暖温帯広葉樹林において、暗い林床に生息している植物を対象に、自然安定同位体比による菌従属栄養性(必要な炭水化物を根に共生する菌から獲得する生活様式)の有無や程度、根に共生している共生菌の同定、光合成特性などを調べた。その結果、ラン科やイチヤクソウ連(ツツジ科)に属する多くの植物において部分的な菌従属栄養性が明らかとなった。そのようなラン科植物の多くは土壤中の多様な菌類の中から特定の菌群を選好しているのに対し、イチヤクソウ類においては幅広い菌種と共生していた。また同所的に生息するイチヤクソウ連は種によって菌への栄養依存様式や依存度が異なったことから、ニッチ分化が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In subalpine conifer forests and temperate broadleaf forests, we investigated the existence and degree of mycoheterotrophy (carbon dependence on root colonizing fungi) among a variety of forest floor plants by analyzing natural abundance of C and N stable isotopes. Root colonizing fungal communities and photosynthetic traits of putative partially mycoheterotrophic plants were also studied. Many species belonging to Orchidaceae and Pyroleae (Ericaceae) were confirmed as fully or partially mycoheterotrophic plants. While the orchid species tended to prefer a certain fungal group, Pyroleae species were colonized by a diverse ectomycorrhizal fungi without apparent specificity. Photosynthetic traits and mycoheterotrophic traits were significantly different among coexisting Pyroleae species, suggesting their niche differentiation.

研究分野：森林微生物学

キーワード：林床植物 共生菌 菌根菌 菌従属栄養性

1. 研究開始当初の背景

(1) マツ科やブナ科など、自然林の主要な樹木の根には外生菌根菌(以下、菌根菌)が共生している。樹木が必要とする土壌養分の大半は菌根菌から供給されるため、適合する菌根菌が存在しない環境では樹木はほとんど成長することができない。特に、土壌中の菌根菌が死滅した荒地などにおいては、僅かに存在する土壌中の菌根菌の分布によって、樹木実生の定着が決定されていることが明らかにされている。

(2) 既に成立している森林では1haの森林に100種を超える菌根菌が存在しており、それら菌根菌の菌糸体が土壌中に普遍的に存在している。このような菌糸体は樹木実生への感染源として機能するだけでなく、一部の林床植物の生活を支えていることが明らかになってきた。例えば、ギンリョウソウという葉緑体を持たない非光合成植物は、樹木と共通の菌根菌が根に感染しており、その菌根菌を通して樹木の光合成産物を受け取って生きていくことが明らかにされている。このような植物の生活様式を菌従属栄養性という。また、キンランなどの一部の林床植物では、自らも光合成も行うが、菌からも炭水化物を獲得する部分的菌従属栄養性を示すことが明らかにされている。しかし、多様な林床植物のうち、このように生活様式が明らかにされているのはごく一部に限られている。林床の生息環境(暗い)を考えると光合成産物の不足を補う部分的菌従属栄養性は環境適応において重要であり、多様な形態がありうるのではないかと着想した。

(3) 林床植物には多くの希少種や絶滅危惧種が含まれており、その保全は重要課題である。そのためにはまず、林床植物がどのような共生菌とどのような関係を持っているのか、また菌への栄養依存はどの程度なのかなど、生活史に関する基礎的な知見が不可欠である。

2. 研究の目的

亜高山帯針葉樹林、暖温带広葉樹林などの調査地において、林床に生育する植物を対象に以下の点を明らかにすることを目的とする。

(1) 炭素と窒素の安定同位体比によって林床植物の菌従属栄養性の有無や程度、依存様式などを明らかにする。

(2) 林床植物の根に共生する菌類群集の特徴と植物種による違いを明らかにする。

(3) 部分的菌従属栄養性の可能性のある植物を対象として、生息環境と光合成特性を調べ、それらと自然安定同位体比との関係を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 調査地：富士山の亜高山帯針葉樹林において3つの調査プロットを設けた。いずれも、上層木はコメツガやシラビソが優占し、カラマツやアカマツ、ダケカンバなどの外生菌根樹種が混交している自然度の高い森林である。また、千葉県の2つの暖温带広葉樹林にも調査区を設けた。上層木はコナラが最も優占し、モミやアラカシなどの外生菌根樹種とヤマザクラなどのアーバスキュラー菌根樹種が混交する二次林である。その他、茨城県内のアカマツ林、長野県内のハイマツ林においても一部の調査を行った。

(2) 安定同位体比解析：本研究では林床植物の炭素源の推定に自然安定同位体比( $^{13}\text{C}$ と $^{12}\text{C}$ の比率)を用いた。一般に、樹木が光合成で固定した炭水化物のうち、軽い $^{12}\text{C}$ の方が樹体内の生理反応で使われやすく、残された重い炭水化物を利用する菌根菌や腐生菌の $^{13}\text{C}$ 値は樹木に比べて高くなっている(図1)。菌根菌に炭水化物の全てを依存する非光合成植物は、さらに $^{13}\text{C}$ に偏った炭水化物を受け取るため、菌根菌よりも高い $^{13}\text{C}$ 値を示す。林床植物が一部の炭水化物を菌類から獲得している場合、独立栄養の樹木よりも $^{13}\text{C}$ が高くなる(図1)。窒素の安定同位体 $^{15}\text{N}$ については、菌根菌と腐生菌で大きな違いがあり、林床植物の共生菌の推定が可能である。本研究では、代表的な林床植物の $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ の自然安定同位体比を調べ、菌従属栄養性の可能性のある種を明らかにする。

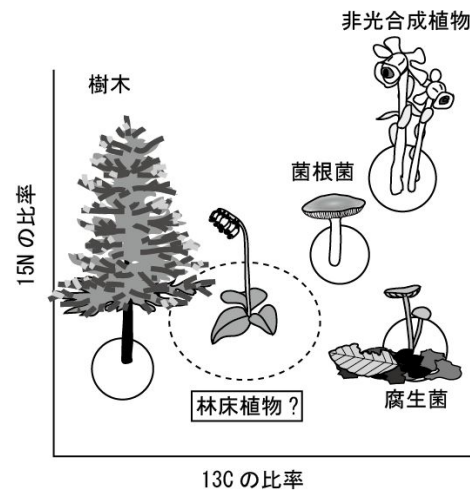


図2 森林植物と菌類の自然安定同位体比  
図の横軸は $^{13}\text{C}$ 同位体比、縦軸は $^{15}\text{N}$ 同位体比を表す。自然界の炭素と窒素は $^{12}\text{C}$ と $^{14}\text{N}$ が圧倒的に多いが、原子量の異なる同位体も僅かに存在する。同位体は化学的には同じだが、分子量の違いにより反応のしやすさには若干の差があり、生理反応過程で分別が起こる。これまでの研究によって菌類は樹木よりも $^{13}\text{C}$ の値が高いことが知られる(詳細は本文参照)。林床植物が自身の光合成だけで生きている場合は樹木と同じような値になるが、菌から炭水化物を受け取っていれば菌と樹木の間値を示すと考えられる(図中の点線領域、共生菌種や依存度、光環境によって同位体比には幅があると想定)。

(3) DNA による共生菌の同定：林床植物の根を採取し、DNA を抽出した。菌特異的プライマーによって、根に感染している菌根菌の ITS rDNA 領域を、PCR 増幅し、ダイレクトシーケンスによって塩基配列を解読した。得られた塩基配列は 97% の相同性を用いてグルーピングした後、国際塩基配列データベース上の登録種と比較することで菌種の同定を行った。また、林床植物の根と同所的に存在する周辺樹木の外生菌根を採取し、同様な解析によって菌種を同定した。外生菌根菌の群集と林床植物の共生菌群集を比較して、各林床植物の共生菌に対する選好性を明らかにした。

(4) 生育環境と光合成特性：各林床植物の生息する場所で全天写真を撮影し、皆空度を求めた。また、開放型光合成蒸散測定ユニット (LI-6400) で光-光合成曲線を作成し、最大光合成速度や光補償点、気孔コンダクタンスなどの光合成特性を調べた。その後、各種光合成特性、林床の光環境、安定同位体比の相互関係などについて解析を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 富士山の亜高山帯針葉樹林の林床に生育する植物の安定同位体比測定の結果、ツツジ科イチヤクソウ連 (Pyroleae) に属する 3 種の植物、及びラン科植物の 1 種に部分的菌従属栄養性が示唆された (論文発表予定のため具体的種名は非公表)。

(2) 上記(1)のイチヤクソウ連 3 種について根の共生菌を調べたところ、共生菌の感染頻度や種組成に有意な違いが確認された。これら 3 種 (sp.1, sp.2, sp.3) の各個体周辺に見られた外生菌根と林床植物共生菌の群集を比較解析したところ、sp.1 と sp.2 では周辺の樹木と共通の菌種が優占していた。特に sp.1 では共通菌の感染頻度も高く、周辺樹木との物理的な菌根菌ネットワークを構築していることが強く示唆された。一方、残りの 1 種 (sp.3) については周辺樹木には見られない子嚢菌のグループが優占していたことから、これまで知られていない独自の菌従属栄養性を獲得している可能性が示唆された。

(3) 上記 3 種の光合成特性を調べたところ、生息場所の光環境と最大光合成速度には有意な正の相関が 2 種で見られた (sp.1 と sp.2)。一方、光環境と炭素の安定同位体比 ( $\delta^{13}C$ ) の関係は 3 種によって大きく異なり、sp.1 では無相関で高い  $\delta^{13}C$  を示し、sp.2 では負の相関、sp.3 では正の相関が見られた (図 2)。この結果は、sp.1 では光環境に関係なく菌への炭水化物依存が強い一方、sp.2 は暗い環境でのみ菌への依存度が高くなっている可塑性を示している。窒素については、3 種のいずれも周辺の他の林床植物より高い  $\delta^{15}N$  を示したことから、菌根菌類に窒素

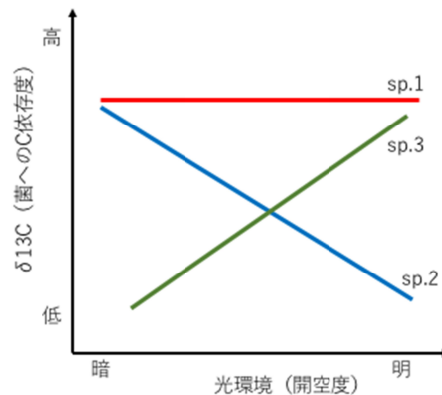


図 2 亜高山帯針葉樹林の林床に生育するイチヤクソウ類 3 種における光環境と菌への炭素依存度の関係

依存していることが示唆された。

(4) 以上の結果から、亜高山帯針葉樹林に同所的に生息するイチヤクソウ連の 3 種の林床植物は、共生菌への栄養依存様式や栄養依存度に大きな違いが見られ、互いにニッチが重ならないように適応しているものと考えられた。

(5) 千葉県内の広葉樹林の林床植物の安定同位体測定の結果、ギンリョウソウとムヨウラン類では外生菌根菌類に、ツチアケビは腐生菌にそれぞれ炭水化物を完全に栄養依存していることが確認された。クロヤツシロランについては外生菌根菌と腐生菌の両方に依存している可能性が示唆された。キンランやギンラン、オオバノトンボソウでは外生菌根菌類への部分的菌従属栄養性が確認された。

(6) 上記(5)で菌従属栄養性が示された植物の共生菌を調べたところ、それぞれ安定同位体比で示唆された菌群と矛盾しないことが明らかとなった。また、外生菌根菌と共生する林床植物を対象に、その共生菌と周辺の外生菌根菌群集と比較した結果、これらの林床植物はいずれも多様な外生菌根菌のごく一部を選好して共生していることが明らかとなった。

(7) ハイマツ林の林床やハイマツ周囲に生息しているツツジ科の矮性植物の根に共生している菌を調べたところ、子嚢菌が優占し、これまで報告のない新たな菌群も高頻度に出現することが明らかとなった。

(8) 海岸松林に生育するイチヤクソウ連植物でも、一部の菌根菌に対する選好性が明らかとなった。

#### 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 1 件)

Koizumi T, Nara K (2017) Communities of putative ericoid mycorrhizal fungi isolated from alpine dwarf shrubs in Japan: effects of host identities and micro-habitat (online early).

Doi:10.1264/j sme2.ME16180

[学会発表](計 5 件)

Matsuda Y, Uesugi T, Chen CF, Huh MK, Tanikawa T, Hashimoto Y, Yagame T, Selosse MA, Murata M, Nara K (2015) Mycorrhizal specificity of the partially mycoheterotrophic *Pyrola japonica* (Ericaceae). 8th International Conference on Mycorrhiza (Northern Arizona University, USA, August 3-7)

渡部陽介, 米村惣太郎, 塩見直希, 奈良一秀, 清家剛, 福田健二, 徳永朋祥, 丹下健, 横張真 (2016) 共生環境に配慮したキンラン属の移植適地選定. 第63回日本生態学会大会、仙台国際センター(宮城県・仙台市) 3/20-24.

米村惣太郎, 渡部陽介, 塩見直希, 奈良一秀, 清家剛, 福田健二, 徳永朋祥, 丹下健, 横張真 (2016) キンラン属の移植手法に関する実験的検討. 第63回日本生態学会大会、仙台国際センター(宮城県・仙台市) 3/20-24.

Jia S, Nakano T, Nara K (2016) Trophic strategies and photosynthetic traits of three coexisting Pyroleae species under different light conditions in subalpine coniferous forests on Mt. Fuji. The 63rd Annual Meeting of the Ecological Society of Japan, (Sendai International Center, Sendai, Miyagi, March 20-24)

Watanabe Y, Yonemura S, Shiomi N, Nara K, Seike T, Fukuda K, Tokunaga T, Tange T, Yokohari M (2016) Development of techniques for transplanting partial myco-heterotrophic Orchidaceae species. US regional association of the International Association for Landscape Ecology 2016 Annual Meeting (Asheville, North Carolina, April 3-7)

[図書](計 2 件)

Nara K (2015) The role of ectomycorrhizal networks in seedling establishment and primary succession. In: Mycorrhizal Network, Ecological studies series, Tom Horton ed., Springer, New York. pp.177-201.

奈良一秀 (2016)「菌根菌」 In 植物学の百科事典. 朝倉書店

[その他]

ホームページ等

[http://www.edu.k.u-tokyo.ac.jp/nara\\_lab/home](http://www.edu.k.u-tokyo.ac.jp/nara_lab/home)

6. 研究組織

(1)研究代表者

奈良一秀 (Nara, Kazuhide)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：60270899