

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K20059

研究課題名(和文) 菌従属栄養植物の移植技術開発への挑戦

研究課題名(英文) Challenges to innovative technology of transplanting mycoheterotrophic 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) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：キンラン等の混合栄養植物は根に共生する菌根菌からも炭水化物を受け取ることで生きているが、移植等の保全措置が難しいことで知られる。本研究によって、キンランは開空度が20%を超えるような環境下では光阻害によって光合成活性が低下すること、暗い環境下で菌への炭水化物依存度を高めるような適応はしていないことなどが明らかにされた。移植地の選定において適度な光環境の場所を選ぶことが必要であろう。炭素安定同位体比の経年変化の解析から、一部のキンラン移植個体では4年後に菌根菌との共生が再構築され、生育も回復傾向にあることが確認された。混合栄養植物の移植成否判断に安定同位体比が利用できることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

複雑な要求性を持つ混合栄養植物は、多くの絶滅危惧種が含まれるうえに、移植等の保全措置が難しいことでも知られている。また、活着しなくても根系に蓄えた栄養で出芽する個体や活着しても休眠する個体が多く、移植の成否判断も難しい。本研究の成果は、混合栄養植物の移植技術開発に不可欠な情報を提供するとともに、安定同位体比を用いた正確な移植の成否判断へも道を開くものである。

研究成果の概要(英文)：Mixotrophic plants obtain carbon from root colonizing mycorrhizal fungi in addition to their own photosynthesis. Because of insufficient knowledge about their physiological and ecological requirements, transplanting mixotrophic plants usually results in failure. We found that *Cephalanthera falcata*, a mixotrophic plant species, cannot properly adapt to the light environments >20% canopy openness inducing photoinhibition. We also found that *C. falcata* did not increase mycoheterotrophy levels under dark environments. These results indicate that we need to select suitable light environments for transplanting *C. falcata*. While ^{13}C values of transplanted *C. falcata* clearly dropped initially, those of a few individuals showing recovering growth increased to the before-transplanting level after 4 years, indicating reconnection to mycorrhizal fungal networks at the transplanted site. We may be able to utilize ^{13}C values for judging the success of the transplantation of mixotrophic plants.

研究分野：森林微生物学

キーワード：混合栄養植物 安定同位体 菌根菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 多くの植物は光合成によって自ら生産した炭水化物をエネルギー源として生きる独立栄養生物である。しかし、植物の中には光合成を行わず、必要とする炭水化物の全てを根に共生する菌類(菌根菌)から獲得しているものがある。このような植物は菌従属栄養植物とよばれ、葉を持たないなど外見上も容易に識別できる。一方、葉をもち自らも光合成を行うものの、菌根菌からも炭水化物を受け取ることで生きている混合栄養植物も存在する()。このような混合栄養植物が生きていくためには、適合する菌根菌が不可欠であり、さらにはその菌根菌の炭水化物供給源である共生樹木も必要となる。

(2) 光環境は独立栄養植物の植物の成長や生存を決定する最も重要な環境要因である。独立栄養植物は周囲の光環境に応じて葉の形質や生理特性を変化させる光順化を示すが、その適応範囲は植物種によって大きく異なる。強すぎる光環境では葉緑体が破壊されて光合成能力が低下する光阻害が発生する()。混合栄養植物の場合、光合成を行う能力を有しているものの、独立栄養植物のような光順化を示すのか、あるいは光順化せずに菌根菌への依存度を変えて適応するのか、どの程度の光環境で光阻害が発生するのかなどについては分かっていない。

(3) 混合栄養植物には、多くの希少種や絶滅危惧種が含まれており、開発にともなって移植が必要となる事例が多い。その場合、一般的な植物の移植手法が適用されるため、共生菌に関する事前調査が行われることはなく、移植結果が詳細に調べられることも少ない。

(4) 混合栄養植物の多くは多年生であり、地下部に蓄えられた養分のみを使って移植後に出芽することも可能である。また、移植などのストレスが加わると休眠することも知られている。このようなことから、移植後の出芽状況を短期的にモニタリングするだけでは移植の成否を判断できない。

(5) 菌類は独立栄養植物に比べて炭素の自然安定同位体比が高い。これを利用し、混合栄養植物が菌根菌の炭水化物にどの程度依存しているのかを推定することができるが()、これが移植の成否判断に用いられたことはない。

2. 研究の目的

(1) 混合栄養植物であるキンランが光順化を示すのか、光環境に応じて菌への依存度を変化させることで光環境適応をしているのかを明らかにする。

(2) 移植対象となった混合栄養植物(および菌従属栄養植物)の菌根菌を同定する。

(3) 移植先の菌根菌相を事前に調べて適地を選んだ後キンランを移植した場合、どの程度移植後に出芽するのかを経年的に明らかにする。

(4) 移植個体の炭素安定同位体比を経年的に測定し、その推移を明らかにするとともに、移植の成否判断の指標となるかについても検討を行う。

3. 研究の方法

(1) 千葉県内の自生キンラン株を対象に、光環境(開空度)と葉の形質(単位葉重量、葉緑体量)、生理特性(最大光合成量、クロロフィル蛍光、窒素含量)を測定した。また、葉の炭素安定同位体比を測定し、菌への依存度と光環境の関係について解析した。

(2) 千葉県内の開発地において移植対象となったキンラン、ギンラン、マヤランについて、移植前あるいは移植時に根の一部を採取した。DNAを抽出し、菌類特異的プライマーで増幅したrDNAのITS領域の塩基配列をもとに、菌根菌の同定を行った。また、他の開発地で移植対象となったアオキラン、ホザキイチヨウラン、ユウシュンラン、イチヨウランについても同様の菌根菌の同定を行った。

(3) 千葉県内で移植を行った約70個体のキンランについて、移植後の出芽状況、出芽した個体の苗高、葉枚数、花数を経年的に測定した。

(4) 移植後に出芽したキンラン個体から葉の一部を採取し、炭素と窒素の安定同位体比を測定した。その測定結果と(3)の生育状況の関係について解析した。

4. 研究成果

(1) 自生するキンランの多くは夏季の開空度が10%前後の場所に生育し、開空度5%以下や20%以上の場所にはほとんど生育していなかった。最大光合成速度は開空度20%付近までは明るくなるに従って増加する光順化の傾向を示した。しかし、開空度20%以上の場所では、最大光合成が顕著に減少し、光阻害の指標であるFv/Fmや葉緑体量が急激に低下した(図1)。

比較対象とした独立栄養生のシランの場合、開空度 100%付近まで最大光合成速度は単調増加して光順化を示していたのに対し、光阻害の傾向は見られなかった。このことから、キンランの光順化能力は弱く、開空度 20%を超えるような明るい環境には適応できないことが示唆される。

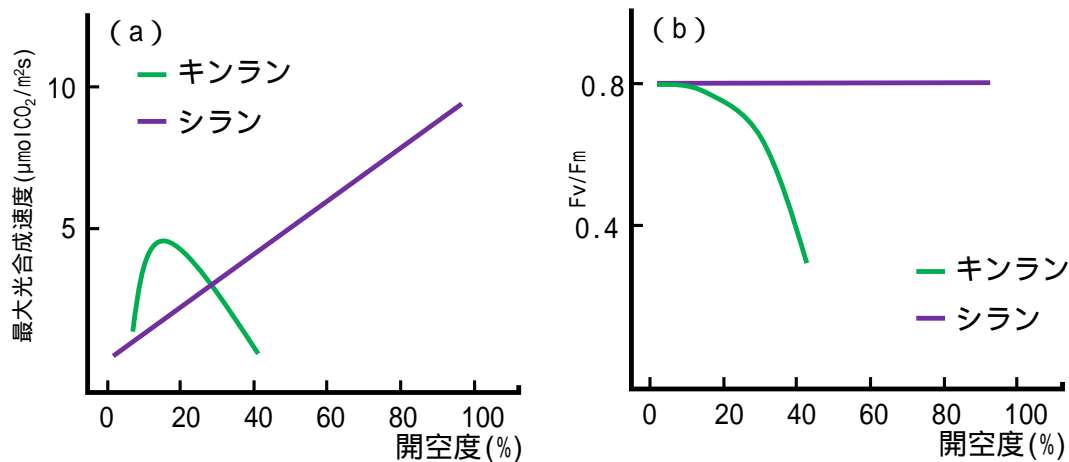


図1 キンラン（混合栄養植物）とシラン（独立栄養植物）の光環境適応
(a) 最大光合成速度、(b) 光阻害 (F_v/F_m)、いずれも模式図

(2) キンランとギンランの炭素安定同位体比分析の結果、それぞれ5割と6割程度の炭水化物を菌類から獲得しているものと推定された。また、キンランの安定同位体比は開空度とともに単調増加した。これは独立栄養植物と同様の傾向で、明るい場所で光合成活性が高いと葉内二酸化炭素濃度が低下し、同位体分別効果が現れにくいために生じていると考えられる。暗い環境で菌根菌への炭水化物依存度を高めるとすれば逆の相関関係が推定されることから、光環境に応じて菌への依存度を变化させるような適応はしていないと考えられる。(1)と(2)の結果から、キンランを移植せざるを得ない場合、開空度が20%を超えないような場所を選ぶことが必要であろう。

(3) 移植対象となったキンラン、ギンラン、マヤラン、ユウシュンランの共生菌を同定したところ、ロウタケ科やイボタケ科の菌根菌が高頻度に検出された。いずれも土壌中には多様な菌根菌を検出していたことから、これらのランはごく少数の限られた菌群を選好して共生しているものと考えられた。さらにキンランの共生菌として特定された菌種の宿主樹木をプラスミドDNAによって同定した結果、コナラ、シラカシ等のブナ科樹木であることが確認された。これまで共生菌が調べられていなかったアオキラン、ホザキイチヨウラン、イチヨウランについても、それぞれ異なるグループの菌類を選好して共生していることが明らかとなった。これらの情報は移植先の検討に利用された。

(4) キンランの移植後1、2年程度の期間では攪乱の少ない移植方法（大きなポイド管利用）の出芽率が良かったものの、移植後5年経過した段階では簡易で攪乱の大きい手法（裸根）の出芽状況がよくなる傾向が見られた。また、移植後最大で4年間の休眠をはさんで再出芽するなど、多くの移植個体で休眠が確認された。このことから、短期間の出芽モニタリングによって移植の成否を判断するのは困難であると考えられた。

(5) 移植前から移植後5年までのキンラン出芽個体の炭素安定同位体比を分析した結果、全体として移植翌年に顕著に減少し、独立栄養植物の値に近く傾向が見られた。移植後5年経過しても、炭素安定同位体比は移植前に比べて低い水準のままであった。これは、移植先において周辺樹木の菌根菌との再接続が行われず、菌根菌から炭水化物の供給を受けられていない個体が多いこと示唆している。一方、個体別に見ると、移植4年後に安定同位体比が増加し、移植前と同等水準に達した個体も複数確認された（図2）。これらの個体は、苗高や開花数も増加傾向にあり、菌根菌との再接続により健全に生育することができていると考えられる。一方、出芽はするものの安定同位体比が単調減少にあった個体では、生育状況も芳しくない傾向が見られた。これらの結果から、キンランの移植の成否の判断に安定同位体比が利用できる可能性がある。

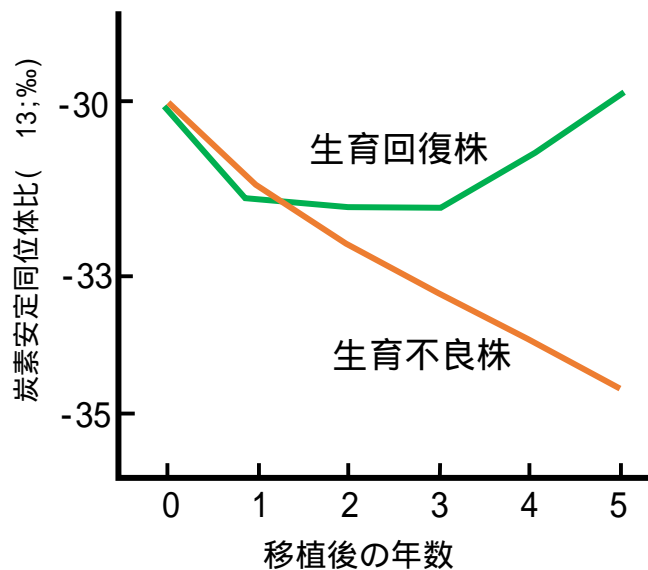


図2 キンラン移植後の個体別炭素安定同位体比の経年変化
(生育回復株と不良株の模式図)

<引用文献>

Selosse MA and Roy M (2009) Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. *Trends in Plant Science* 14:64-70

Powles SB (1984) Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annual Review of Plant Physiology* 35:15-44

Gebauer G and Mayer M (2003) ¹⁵N and ¹³C natural abundance of autotrophic and myco-heterotrophic orchids provides insight into nitrogen and carbon gain from fungal association. *New Phytologist* 160:209-223

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Jia S, Nakano T, Hattori M, Nara K	4. 巻 27
2. 論文標題 Root-associated fungal communities in three Pyroleae species and their mycobiont sharing with surrounding trees in subalpine coniferous forests on Mount Fuji, Japan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mycorrhiza	6. 最初と最後の頁 733-745
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00572-017-0788-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Koizumi T, Nara K	4. 巻 32
2. 論文標題 Communities of putative ericoid mycorrhizal fungi isolated from alpine dwarf shrubs in Japan: effects of host identities and micro-habitat	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Microbes and Environments	6. 最初と最後の頁 147-153
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1264/jsme2.ME16180	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 平野堯将・米村惣太郎・渡部 陽・奈良 一秀
2. 発表標題 都市公園におけるキンラン自生地の生育環境
3. 学会等名 土木学会第73回年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松宮瑞穂・平野堯将・渡部陽介・米村惣太郎・奈良一秀
2. 発表標題 キンラン類の葉の光順化と菌従属栄養性
3. 学会等名 第66回日本生態学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部陽介・米村惣太郎・平野堯将・奈良一秀
2. 発表標題 三者共生環境に配慮したキンラン属の移植適地選定手法の開発
3. 学会等名 土木学会平成29年度全国大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 米村惣太郎・渡部陽介・平野堯将・奈良一秀
2. 発表標題 都市公園におけるキンラン自生地の生育環境. 第65回日本生態学会大会
3. 学会等名 第65回日本生態学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡部陽介・米村惣太郎・平野堯将・奈良一秀
2. 発表標題 個体モニタリングに基づくキンラン属移植後の休眠・再出芽の推移
3. 学会等名 第65回日本生態学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 本多美佐季・奈良一秀
2. 発表標題 絶滅危惧種オオウメガサソウの共生菌と菌従属栄養性
3. 学会等名 第65回日本生態学会大会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----