

令和 4 年 5 月 17 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02237

研究課題名（和文）土壌酸性傾度の異なるスギ林に共生する菌根菌とそれを取り巻く細菌，線虫群集の解明

研究課題名（英文）Microbial communities around roots of cypress trees grown under various ranges of acidic soils

研究代表者

松田 陽介（Matsuda, Yosuke）

三重大学・生物資源学研究所・教授

研究者番号：30324552

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、日本固有の樹種スギを対象に、中部圏で人が植えた林（人工林）を調査地として、スギ根に共生する菌根菌，内生菌，その周囲に生息する線虫の群集構造を調べた。その結果，多様な菌類が根に共生しており，それらを摂食する可能性の高い線虫類が生息することが分かった。これら土壌生物は周辺の土壌の酸性度（土壌pH）に強く影響を受けることが示唆された。したがって，スギ人工林の成立する土壌環境が土壌に生きる微生物の多様性に影響を与えたと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

戦後に植栽されたが管理が行き届かない人工林が散見されるが，そうした中には健全な生育の見込めない林もある。本研究では人工林であっても多様な土壌生物がいることを見出し，その暮らしは生産者である樹木とともに，樹木がよりどころとする土壌環境に影響を受けることが分かった。今後，これらの微生物，線虫が林の健全性を示す指標となるのかどうかの視点に道筋をつけることができた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we studied the community structure of mycorrhizal fungi, endophytic fungi, and nematodes that live in and around cedar fine roots in human-planted artificial forests, in the central region of Japan, focusing on Japanese cedar, which is an endemic tree species in Japan. Our results showed that a diverse of fungi coexist within the roots, and that nematodes are likely to feed on them. These soil organisms were strongly influenced by the acidity (soil pH) of the surrounding soil. Therefore, the soil environment in which cedar plantation forests are established may affect the diversity of microorganisms living in the soil.

研究分野：森林科学

キーワード：スギ 人工林 共生菌 線虫 アーバスキュラー菌根菌

1. 研究開始当初の背景

世界的に土壌酸性化のような土壌劣化現象が生態系サービスを低下させ、生物資源の基盤を脅かすことが懸念されている。森林生態系においては、人々が植栽してきた樹種の中に、養分の収奪を通して土壌を酸性化させるものが存在する。この現象はスギ (*Cryptomeria japonica*) の人工林で確認され、スギと植栽された場所の土壌とのミスマッチにより引き起こされると推察された。しかしながら、この現象が土壌に潜む生物とどのように関わるのかは未解明であった。日本の人工林の7割を占めるスギやヒノキの細根には、共生菌であるアーバスキュラー菌根菌 (AM菌) が感染、定着しており、宿主樹木の養水分吸収を助けている。森林土壌は地球上で最も多様な微生物の生息地であり、AM菌根の周辺には様々な細菌や線虫が生息する。線虫は地球上で最も豊富な動物群で、土壌の養分循環に関わる土壌食物網の重要な構成者である。そのため、これら土壌生物の群集構造の規定要因を決定することは、土壌の養分循環を把握する上で必要である。多様な樹種で構成される森林では、土壌の空間的な不均一性が高い環境である。単一樹種で構成されるスギ人工林は空間的な不均一性をできるかぎり排除できると期待され、生物群集の規定要因を環境要因と連関させるための理想的なモデルになると考えられる。

そこで本課題では、土壌の養水分吸収を実質的に担い、健全な生育に必須と考えられるスギ細根に共生する菌根菌と根圏に生息する微生物を捕食する線虫に焦点を当て、根圏の土壌生物と土壌化学性の遷移との因果関係を解明することを目標とした。

2. 研究の目的

スギ細根に共生する菌根菌とその周囲に生息する線虫の群集構造を明らかにし、樹木 - 共生菌 - 線虫の3者の関係を食物連鎖の視点から理解するための基盤を構築することを試みた。その際、対象生物は形態観察とDNA解析にもとづき分類群の識別を行うとともに、異なる立地環境が地下部の生物群集におよぼす影響を考察しようとする設計、調査を行った。

具体的には以下の内容を遂行した。

- (1) 異なる酸性土壌のスギ林分に生息するAM菌群集の解明
- (2) 異なる酸性土壌のスギ林分に生息する線虫菌群集の解明
- (3) 異なる標高に生息する線虫菌群集の解明

3. 研究の方法

目的の(1)と(2)では、肥沃で酸性度の低い土壌と痩せた酸性度の高い土壌に成立する本州中部のスギ人工林7林分を対象に1ha内から土壌を採取した。土壌からスギ根系を取り出し、それら先端部分におけるAM菌の感染状況を光学顕微鏡で観察した。一部の細根では、AM菌の分類属性を明らかにするため、細根からDNAを抽出し18S rDNAの部分配列をサンガーシーケンシング法とIon Torrent PGMによるDNAメタバーコーディング法で解析した。採取した土壌中に含まれる線虫はベルマン法で抽出し、光学顕微鏡を用いて属レベルで同定を行った。さらに線虫の頭部形態にもとづいて5機能群(細菌食性、真菌食性、植食性、肉食性、雑食性)に類別した。土壌環境要因として地温、含水率、pH、電気伝導度(EC)、全炭素量(C)、全窒素量(N)と線虫の場合は菌糸量を測定した。得られた群集データから非類似度多次元尺度法を用いてChao指数にもとづく座標付けを行い、環境要因との連関を調べた。

線虫の分類群推定には形態観察が用いられてきたが、近年はDNAメタバーコーディング法に置き換わりつつある。しかし、両手法間の結果の一貫性に関する方法論的議論は続いている。そこで目的の(3)では、線虫の形態観察とDNA解析によって取得した群集構造を比較し、両手法における群集特性の差異を見出すため、異なる標高系列における土壌線虫の群集構造を調べた。滋賀県伊吹山の200m、500m、800m(200-800mはスギ人工林)、1100m(カエデ林)、1350m(草地)の地点から土壌を採取し、光学顕微鏡を用いて属レベルの同定を行った。さらにIon Torrent PGMを用いて線虫菌群集のDNAメタバーコーディング解析を行った。得られた線虫菌群集データから非類似度多次元尺度法を用いてChao指数にもとづく座標付けを行い、両手法の群集パターンを比較した。

4. 研究成果

- (1) 異なる酸性土壌のスギ林分に生息するAM菌群集の解明

調査したすべて人工林から採取されたスギの細根にはAM菌の感染が認められ、宿主細胞内において菌糸が枝葉のように分岐したArumタイプといわれる菌根とともに(図1a)、菌糸がコイル状になるParisタイプの菌根が見いだされた(図1b)。感染したAM菌の多くはGlomeraceae科に属しており、サンガー法では129分類群、DNAメタバーコーディング法では48分類群検出された(図2)。調査地間でAM菌の群集構造に有意なまとまりは検出されず、土壌の炭素と窒素が有意な環境因子として検出された。細根の中でも加齢に伴い、土壌のpH、電気伝導度、窒

素によって AM 菌の群集構造は有意に座標づけされた。したがって、スギの細根には AM 菌が密接に関わっており、根の生育に伴い至近的な土壌環境が定着する AM 菌を選抜していると考えられた。本研究はスギ人工林の AM 菌の群集構造を初めて明らかにし、世界的にも数少ない AM 性の森林タイプの菌類生態の情報を提供した。詳細は Matsuda et al. (2021)を参照のこと。

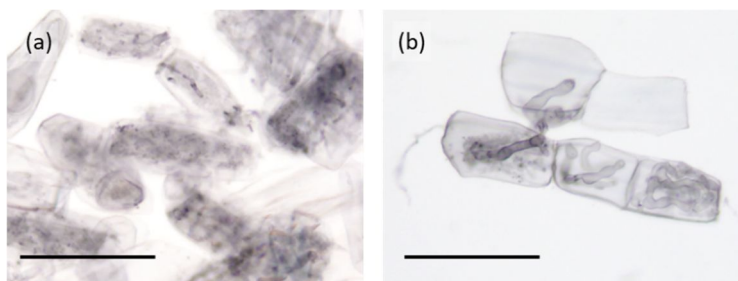


図1 スギ細根の細胞内に定着したアーバスキュラー菌根菌。(a)Arum タイプ、(b)Paris タイプ。バー=100μm

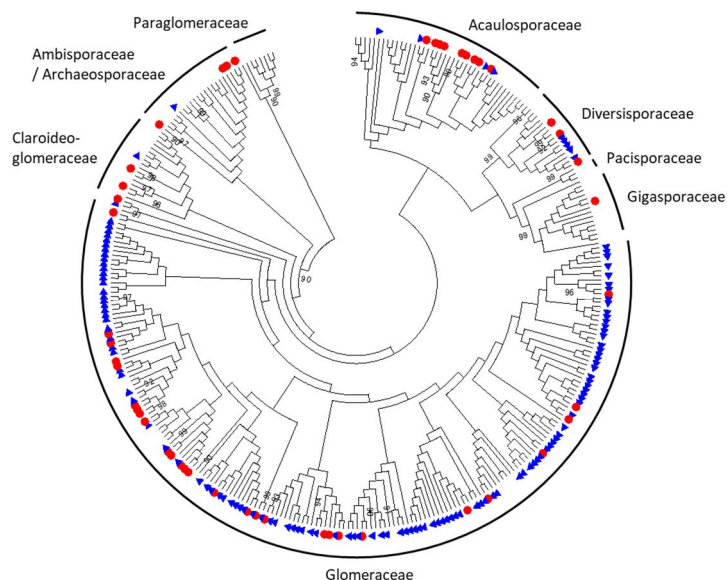


図2 スギ細根に定着したアーバスキュラー菌根菌の近隣結合法による分子系統樹。18s rDNA の部分領域を対象にサンガーシーケンス()と DNA メタバーコーディング()により塩基配列を決定した。枝上の数字は 1000 回のブートストラップ検定で 90% 以上であったことを示す。

(2) 異なる酸性土壌のスギ林分に生息する線虫群集の解明

線虫群集構造は 8 つの土壌環境要因 (pH, 地温, 含水率, 電気伝導度, 全炭素量, 全窒素量, 炭素・窒素比, 菌糸量) が関連し, 中でも土壌 pH が大きく影響することが明らかになった(図3)。酸性化土壌に向かうほど, 菌糸量が増加し, それを餌とする真菌食性線虫も増加することが明らかになった(図3)。本研究は国内のスギ人工林において初めて線虫群集構造を明らかにした。国外では温帯域の広葉樹林における線虫群集研究が多い中で, 本研究は温帯の針葉樹林というこれまで報告の少ない森林タイプの線虫群集情報を提供した。詳細は Kitagami et al. (2020)を参照のこと。

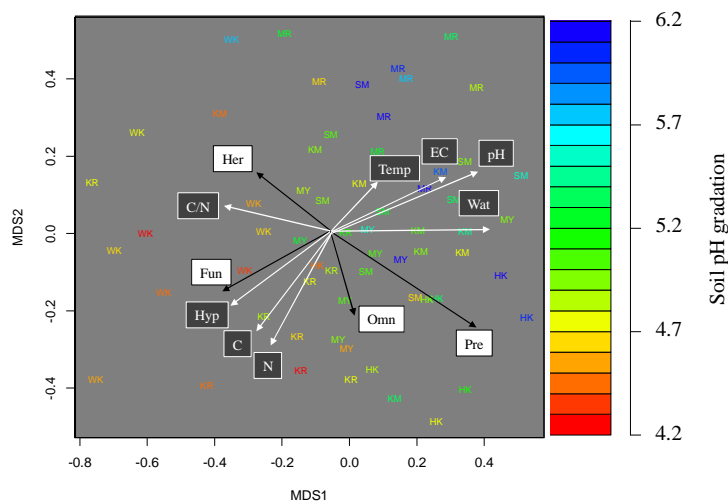


図3 非類似度多次元尺度法を用いた Chao 指数にもとづく土壌線虫群集の座標付け。白矢印は関連した土壌環境要因を, 黒矢印は線虫機能群を表す。Temp; 地温, Wat; 含水率, EC; 電気伝導度, C; 全炭素量, N; 全窒素量, Hyp; 菌糸量, Fun; 真菌食性線虫, Her; 植食性線虫, Pre; 肉食性線虫, Omn; 雑食性線虫。図中のアルファベットは調査地, 色は pH の程度を示す。

(3) 異なる標高に生息する線虫群集の解明

線虫群集構造は両手法間で明瞭に分かれたが、群集パターンは両手法で類似した(図4)。つまり、線虫群集は低標高から高標高に向かって変化していくことが示された。このことから、DNAメタバーコーディングと従来の形態観察は異なる線虫群集構造を示すが、環境勾配に対して同様の群集パターンを示すことができることを示した。したがって、DNAメタバーコーディングは環境の変化に反応する線虫群集を決定するための効果的なツールになり得る。詳細は Kitagami et al. (2022)を参照のこと。

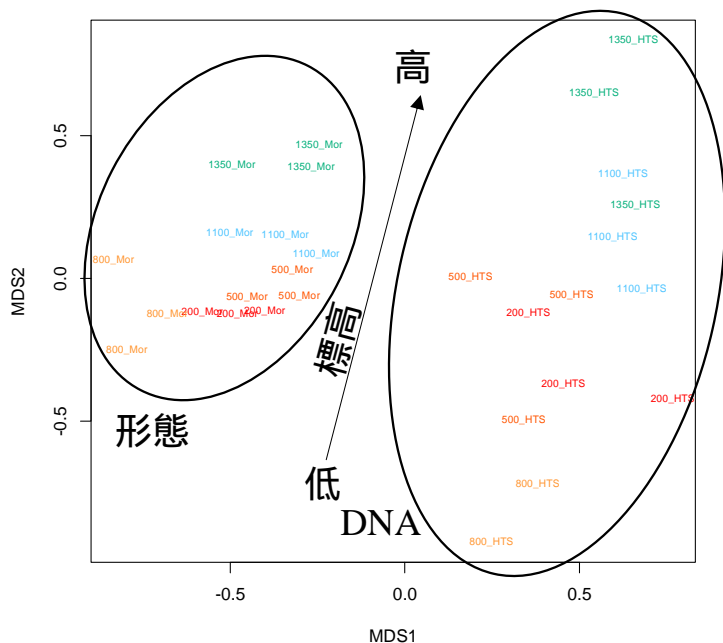


図4 非類似度多次元尺度法を用いた Chao 指数にもとづく土壌線虫群集の座標付け。線虫の群集構造は形態観察か DNA メタバーコーディングかの分析方法で明瞭に分かれた。線虫群集は手法によらず低標高から高標高に向かって変化した。

< 引用文献 >

- Kitagami Y, Obase K, Matsuda Y (2022) High-throughput sequencing and conventional morphotyping show different soil nematode assemblages but similar community responses to altitudinal gradients on Mt. Ibuki, Japan. *Pedobiologia*. 90:150788. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2021.150788>
- Kitagami Y, Tanikawa T, Matsuda Y (2020) Effects of microhabitats and soil conditions on structuring patterns of nematode communities in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) plantation forests under temperate climate conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 151, 108044. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.108044>
- Matsuda Y, Kita K, Kitagami Y, Tanikawa T (2021) Colonization status and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in the coniferous tree, *Cryptomeria japonica*, with special reference to root orders. *Plant and Soil* 468:423–438. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05147-w>

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsuda Yosuke, Kita Kohei, Kitagami Yudai, Tanikawa Toko	4. 巻 468
2. 論文標題 Colonization status and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in the coniferous tree, <i>Cryptomeria japonica</i> , with special reference to root orders	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Soil	6. 最初と最後の頁 423 ~ 438
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11104-021-05147-w	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 -
1. 著者名 Kitagami Yudai, Obase Keisuke, Matsuda Yosuke	4. 巻 90
2. 論文標題 High-throughput sequencing and conventional morphotyping show different soil nematode assemblages but similar community responses to altitudinal gradients on Mt. Ibuki, Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pedobiologia	6. 最初と最後の頁 150788 ~ 150788
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pedobi.2021.150788	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 -
1. 著者名 Kitagami Yudai, Tanikawa Toko, Matsuda Yosuke	4. 巻 151
2. 論文標題 Effects of microhabitats and soil conditions on structuring patterns of nematode communities in Japanese cedar (<i>Cryptomeria japonica</i>) plantation forests under temperate climate conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Soil Biology and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 108044 ~ 108044
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.soilbio.2020.108044	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 -
1. 著者名 Matsuda Yosuke, Yamaguchi Yusuke, Matsuo Naoko, Uesugi Takashi, Ito Junko, Yagame Takahiro, Figura Tomas, Selosse Marc-Andre, Hashimoto Yasushi	4. 巻 133
2. 論文標題 Communities of mycorrhizal fungi in different trophic types of Asiatic <i>Pyrola japonica sensu lato</i> (Ericaceae)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 841 ~ 853
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-020-01233-9	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 該当する

1. 著者名 Takenaka Chisato, Fukushi Akihisa, Matsuda Yosuke	4. 巻 26
2. 論文標題 Arbuscular mycorrhizal fungi facilitate the uptake of radiocesium by <i>Eleutherococcus sciadophylloides</i> (araliaceae) - a pot-scale and field survey	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Forest Research	6. 最初と最後の頁 101 ~ 109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13416979.2021.1881229	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 -

1. 著者名 鈴木 康平、北上 雄大、松田 陽介	4. 巻 103
2. 論文標題 スギ地上部の異なる器官に分布する線虫の群集構造と菌糸量の推定	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本森林学会誌	6. 最初と最後の頁 253 ~ 258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4005/jjfs.103.253	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 Kitagami Y., Kanzaki N., Matsuda Y.	4. 巻 56
2. 論文標題 First report of segmented filamentous bacteria associated with <i>Rhigonema</i> sp. (Nematoda: Rhigonematidae) dwelling in hindgut of <i>Riukiaria</i> sp. (Diplopoda: Xystodesmidae)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Helminthologia	6. 最初と最後の頁 219 ~ 228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2478/helm-2019-0018	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 -

1. 著者名 Kitagami Yudai, Matsuda Yosuke	4. 巻 78
2. 論文標題 Temperature changes affect multi-trophic interactions among pines, mycorrhizal fungi, and soil nematodes in a microcosm experiment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pedobiologia	6. 最初と最後の頁 150595 ~ 150595
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pedobi.2019.150595	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 -

1. 著者名 Kitagami Yudai, Kanzaki Natsumi, Tanikawa Toko, Matsuda Yosuke	4. 巻 21
2. 論文標題 Free-living nematodes associated with pine cones of <i>Pinus thunbergii</i> and <i>P. taeda</i> at Japanese coastal and inland forest sites	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nematology	6. 最初と最後の頁 389 ~ 400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1163/15685411-00003221	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 -

1. 著者名 Kitagami Yudai, Tanikawa Toko, Mizoguchi Takeo, Matsuda Yosuke	4. 巻 23
2. 論文標題 Nematode communities in pine forests are shaped by environmental filtering of habitat conditions	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Forest Research	6. 最初と最後の頁 346 ~ 353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13416979.2018.1516920	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17件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 牧田直樹・菱拓雄・小林真・野口享太郎・松田陽介
2. 発表標題 樹木根の成長と構造の基礎的な仕組みと競争・共生関係
3. 学会等名 第132回日本森林学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北上雄大・小長谷啓介・松田陽介
2. 発表標題 伊吹山の異なる標高に生息する土壌線虫群集の形態学的およびDNAメタ解析
3. 学会等名 第132回日本森林学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Obase K, Mine T, Kitagami Y, Tanikawa T, Chen CF, Matsuda Y
2. 発表標題 Regional-scale analysis of rhizosphere bacterial community in Cryptomeria japonica plantations.
3. 学会等名 第132回日本森林学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 喜多晃平・谷川東子・松田陽介
2. 発表標題 中日本のスギ人工林におけるスギ細根に関わるアーバスキュラー菌根菌の群集構造
3. 学会等名 日本菌学会第63回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北上雄大・谷川東子・松田陽介
2. 発表標題 スギ人工林の微小生息環境が線虫群集構造に及ぼす影響
3. 学会等名 日本線虫学会第27回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北上雄大・松田陽介
2. 発表標題 緯度系列がスギ人工林に生息する土壌線虫の群集構造に及ぼす影響
3. 学会等名 第131回日本森林学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今枝寛太・谷川東子・松田陽介
2. 発表標題 中日本の人工林で採取されたスギ細根に関わる内生菌の分類属性
3. 学会等名 第8回中部森林学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北上雄大・松田陽介
2. 発表標題 伊吹山の異なる標高に生息する土壤線虫の形態的観察
3. 学会等名 第8回中部森林学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松田陽介・谷川東子
2. 発表標題 中日本の人工林においてスギ細根に内在する真菌類の分離，培養
3. 学会等名 第8回中部森林学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 喜多晃平・谷川東子・松田陽介
2. 発表標題 中日本のスギ人工林のスギ細根内に定着するアーバスキュラー菌根菌の群集構造
3. 学会等名 生態学会2018年度中部地区大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松田陽介・今枝寛太・谷川東子
2. 発表標題 中日本の人工林で採取されたスギ細根に関わる内生菌の群集構造
3. 学会等名 第130回日本森林学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kitagami Y, Tanikawa T, Matsuda Y
2. 発表標題 Habitat filtering influences community structures of nematodes at <i>Cryptomeria japonica</i> forests in Japan.
3. 学会等名 The 33th Symposium of the European Society of Nematologists (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 松田陽介・小長谷啓介 (齋藤 雅典 編)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 築地書館	5. 総ページ数 256
3. 書名 菌根の世界 (3章, 外生菌根菌を通して海岸林の再生を考える)	

1. 著者名 松田陽介 (平野 恭弘・野口 享太郎・大橋 瑞江 編)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 共立出版	5. 総ページ数 376
3. 書名 森の根の生態学 (2.5 根に関わる微生物)	

1. 著者名 松田陽介 (日本森林学会 編)	4. 発行年 2021年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 694
3. 書名 森林学の百科事典 (4-5 植物 - 微生物共生系)	

1. 著者名 松田陽介 (升屋 勇人編)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 共立出版	5. 総ページ数 332
3. 書名 森林と菌類 (第3章 森林利用と菌根菌)	

〔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	谷川 東子 (Tanikawa Toko) (10353765)	名古屋大学・生命農学研究科・准教授 (13901)	
研究分担者	小長谷 啓介 (Obase Keisuke) (90612739)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等 (82105)	
研究分担者	北上 雄大 (Kitagami Yudai) (40882684)	三重大学・生物資源学研究科・助教 (14101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------