

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

2013年5月31日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580166

研究課題名（和文） 樹木内生菌・病原菌類の伝播にマングローブ植物の散布体はどう寄与しているか

研究課題名（英文） The contribution of propagules of mangroves to the dispersal of endophytic and pathogenic fungi.

研究代表者

亀山 統一 (Kameyama Norikazu)

琉球大学・農学部・助教

研究者番号：30264477

研究成果の概要（和文）：

マングローブ植物の多くは、種子が樹上で発芽し、遠距離に散布され、定着後急速に成長する。この過程を通じて内生菌・病原菌の感染可能性は大きく異なった。内生菌・病原菌の種数・感染率の低い散布体は、定着先に樹木寄生菌を運ぶ「乗り物」たり得るが、定着後の茎葉の菌類組成を規定してはいない。稚樹・成木茎葉の内生菌・病原菌は、散布体經由よりも外部からの孢子感染が主要な感染経路であり、その感染に潮汐による冠水の影響を強く受けると示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The isolation frequency and species composition of endophytic and pathogenic fungi from the tissue of seeds, propagules and seedlings of mangroves (*Rhizophoraceae* species and *Avicennia marina* in the Ryukyu Islands) were definitely different from those from adult trees respectively. Propagules can be the vehicles of parasites, although the fungal species composition of each propagule does not directly reflect that of the adult tree in future. It is suggested that fungal endophytes and pathogens of examined mangroves usually colonize on leaves or stems by spore infection rather than mycelial extension, which is therefore suppressed by daily waterlogging by tides.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：森林科学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：マングローブ、樹木内生菌、病原菌、琉球列島、散布体、伝播、感染経路、ヒルギ科

## 1. 研究開始当初の背景

マングローブ林は、熱帯・亜熱帯地域の入り江や河口部において、潮の干満によって地表が露出と浸水を繰り返す潮間帯に成立する。潮間帯の前方では、地表が常に冠水し、波浪や潮流の影響を強く受けるから、陸上植物は定着しない。マングローブ林の後背には、連続して陸上森林が出現する。陸上森林と比較して、塩分を含んだ水の冠水を受け、落葉落枝が塩水に浸漬されて土壌表面に安定せずに移動すること、樹冠が冠水したり、強い風波の影響によりしばしば着塩したりすること、散布体が漂流して生育適地に運搬されることなどは、マングローブ林の大きな特徴である。発達したマングローブ林と後背の陸上森林はしばしば林冠が連続しているが、マングローブ林の環境条件はこのように後背林とは大きく異なり、その樹種構成も著しく単純で、階層構造も乏しい。

本研究申請者は、科研費の助成（基盤研究(C)、琉球列島のマングローブの樹木内生菌相はどのように形成されるか）をうけて、2007～2009年度、マングローブ林における樹木内生菌相と、その後背林との関係について研究を進めてきた。その結果、琉球列島の主要なマングローブ樹種についてそのシュートに存在する樹木内生菌の菌類相を明らかにすることができた。マングローブの内生菌は陸上森林の構成樹種と共通のものも多いが、目下、もっぱらマングローブから分離された内生菌や病原菌の菌群も存在した。即ち、マングローブ林と後背林のいずれからも多種の内生菌が分離されるが、多くの樹種に共通して、*Colletotrichum* sp., *Phyllosticta* sp., *Phomopsis* sp.が優占的であった。また、葉に偏在し茎からは分離されない *Phyllosticta* sp.が、展葉を終えたばかりの若い葉や、大潮では水没する樹幹下部から分離された。これらのことから、陸上森林がマングローブ内生菌の接種源である可能性や、マングローブのシュートにおける速やかな内生菌の感染・定着が示唆される（亀山ら 2009、日本森林学会大会発表データベース、120、pp. 833）。これらの結果から、マングローブ内生菌相には、周辺の陸上森林が強く影響することが分かるが、マングローブ固有の菌群の存在も示唆されるところである。

さて、入り江や河口部では、洪水などによって土砂が流入したり、既存のマングローブ林が押し流されて裸地化するなどして、新たなマングローブ林の成立適地が形成され、そこにマングローブの散布体が漂着していくことは珍しくない。また、近年では、マングローブの人工造林も行われている。中国深圳のように、都市のウォーターフロントで環境浄化や公園整備を目的に植林される例も増

えている。このような新しいマングローブ林では、樹木内生菌の接種源が手近にはない。一方、既存のマングローブ林の外縁には、汀線側には孤立して生育している単木状の個体が多数見られるが、こうした個体でも同様の問題があると思われる。マングローブ林では、自然状態または人為の負荷を受けた状態で、いかにして寄生菌類相を維持しているのか、関心がもたれる。

そこで、マングローブ樹種の多くが有する種子の「胎生」（樹上で発芽したものが散布体となる）に着目し、散布体を寄生菌類の「乗り物」とする伝播の寄与の程度と機作を検討することが要請された。

## 2. 研究の目的

マングローブ植物の多くは樹上の果実内部で種子が発芽し、この幼若な植物体が散布体となって水上を漂流後に定着する特性を持つ。こうした散布体は、一般の種子と異なり発達した柔組織を持つ点で内生菌や病原菌の本来の寄生部位に似ている。また、ヒルギ科では、これら散布体はその胚軸が樹上で数ヶ月にわたり露出するため、散布前には胞子による感染機会が十分にあることから、これらの菌類の貴重な「乗り物」となって伝播に寄与している可能性がある。

ところで、現存するマングローブの多くは、社会圧を強く受けて、森林としての劣化が進んでおり、その生物多様性は危機にさらされている。また、地球温暖化により今後予想される海水面の上昇により、マングローブ林は、かつてない短期間に大規模な移動を強いられる。

このような生育環境の悪化にさらされているマングローブ生態系の保全や、特に発展途上国におけるマングローブ造林などの環境修復事業、原環境が損なわれた都市における緑地の創造のために、マングローブの健全性に影響を与える寄生菌類の検索と評価、その診断法を確立していく必要がある。特に、散布体の健全性はマングローブ林の天然更新や再造林にとって重要である。

このような状況をふまえて、本研究では、マングローブ林の健全性のみならず生物多様性に寄与する重要な要素でありながら、ほとんど未知である寄生微生物相について、その基本的情報を明らかにすることに留意する。

そこで本研究では琉球列島のマングローブ樹種の、果実・樹上の散布体・漂流している散布体・定着間もない稚樹の寄生菌類相を明らかにし、マングローブの自らの散布体を乗り物として寄生菌類を新たな個体・新たな林分へと運搬させている現象について検討する。

第一に、琉球列島産の純マングローブ種のうちヒルギ科3種すべてとヒルギダマシの4樹種を対象として、西表島の自然度の高いマングローブ林と、沖縄島の人為の負荷の強いマングローブ林にそれぞれ調査地を設けて、果実・樹上の散布体・漂流している散布体・定着間もない稚樹を対象とした内生菌・病原菌の探索を時系列的に実施する。特に琉球列島北部での優占種であるメヒルギについて、地上部組織の内生菌類相を散布体から成木に至るまで明らかにすることとし、それにもとづいて、マングローブ内生菌の樹種・部位・季節・地域による変異について可能な限り明らかにする。

第二に、これまで本研究申請者が行った研究では、(1)ヒルギダマシの発芽種子からは特定少数の菌群が偏って分離される、(2)ヒルギ科の散布体では、発芽間もない種子や、すっかり伸長して外界に露出した胚軸よりも、果皮に覆われた胚軸の部分で内生菌の分離率が高い、などの特徴が見いだされている。本研究では、母樹の組織や樹体外から散布体へと感染定着する菌群の特定と、その経路・時期・頻度など、散布体への寄生菌類の感染の機作を明らかにする。

第三に、本研究では、散布体や稚樹からの寄生菌類の分離試験を大規模に行うことから、これまで成木の茎葉から分離された内生菌群とは異なる菌種が見いだされた場合、その菌類学的・病理学的性質を検討する。すなわち、病原性試験や培地上での生育特性の検討を行う。

### 3. 研究の方法

本研究は3年の期間で実施した。各年に企図した研究の方法は次の通りである。

#### (1) 2010年度

##### ①散布体の寄生菌類相の基本調査

沖縄島、西表島のマングローブにおいて、申請者らの既往のヒルギ科マングローブ内生菌研究に供された試験地を含むように、本研究の調査地を設定する。ヒルギダマシの調査地として、両島の好適地を新たに設定する。

メヒルギ、ヤエヤマヒルギ、ヒルギダマシの4樹種について、果実・樹上の散布体・漂流している散布体・定着間もない稚樹の茎葉を採取し、常法で菌類の分離試験を行う。それぞれの調査地で、調査木から試料を年数回採集し、菌類の分離・属レベルの同定を行い、分離菌相の時系列的变化を明らかにする。なお、オヒルギについては、予備調査においてガの幼虫が高率で散布体に穿孔しており、健全な散布体を選びわけて内生菌の分離材料として採集することが困難であり、また、林分の更新に悪影響を及ぼす可能性もあると

判断されたため、検討対象から外した。

試験地においては、固定調査区の毎木調査を行い、林木の状態を記録する。

##### ②菌類の同定及び菌類学的性質の検討

分離試験によって得られた菌株を形態学的特徴により分類し、少なくとも属レベルまで同定して保存する。その生育好適温度、pH、耐塩性、栄養要求などの菌類学的性質について明らかにする。既知の種については、分布範囲の文献調査を行い、陸上森林の菌類相との関係を極力明らかにする。主要な菌群について、交接種や対峙培養により拮抗作用等の検討手法を確立する。

##### ③解剖学的検討

果実や散布体について光学顕微鏡標本を作製し、染色等により直接菌糸の伸長の状況を観察できるよう手法を確立して、供試材料の解剖学的観察を行う。

##### ④接種試験用の苗の育成

接種試験に必要なマングローブ植物について、実生を採取し、苗を琉球大学構内にて育成する。

##### ⑤結果のとりまとめと次年度以降の研究計画の策定

研究初年度の結果のとりまとめをおこない、その着目すべき成果や反省点をふまえて、次年度以降の研究計画に必要な修正を加え策定する。成果は、日本森林学会、樹木医学会等の学会で発表するとともに、市民への普及にも尽力する。

#### (2) 2011-12年度

##### ①平成22年度からの継続課題

研究方法に必要な改善を加えつつ、調査・検討を継続し、野外調査に関しては一般に必要とされる3年間の継続データとして蓄積する。純マングローブ種の枝葉の内生菌相については、これまでの予備的な検討により手法を確立しており、研究着手後、大きな計画変更は要しなかった。しかし、散布体の場合、分離率が低いので、十分な標本が得られるよう工夫し、初年度の分離傾向に注意し、必要に応じて手法を改良する。

既往の研究で明らかにされた、マングローブおよび後背林構成樹種の内生菌相との異同に着目し、散布体に偏って得られる菌類があれば、その菌群への検討を重点的に行う。

解剖学的検討について、所要の手法の改良を試みる。

##### ②接種試験

分離された主要な菌株をもちいて、内生菌種ごとの宿主樹種に対する病原性や菌類相互の拮抗製などを実生苗への接種試験により明らかにする。また、成木の組織で病原性の知られる病原菌類について、稚樹に対してどのような病原性や病徴進展を示すか検討する。マングローブ内生菌の構成種数が多いことに鑑みて、樹種を超えて共通性の高い数

種の菌類について、メヒルギの茎葉に対する接種試験を試みることにする。

### ③散布体の付傷要因とその影響の検討

ヒルギ科の発達した胚軸には、鱗翅目昆虫の幼虫が穿孔するなど、いくつかの付傷要因があり、そのために、発芽・発根能力が低く、定着しにくくなった散布体が多数漂流することになる。しかし、申請者らの予備的な調査によれば、これらの散布体では、傷痕部で様々な菌類が感染し、孢子形成を行っており、運ばれた先で、定着している個体への菌類の効果的な接種源としての役割を果たしている可能性がある。そこで、付傷要因の検討と、傷痕部に優占する菌群について、検討する。とくに、メヒルギ枝枯病菌など、病原菌が散布体傷痕部に感染して、散布されている可能性について検討する。

### ④取りまとめ

研究のとりまとめは単年度ごとに行い、成果をしかるべく発表する。最終年度においては、本研究の全体の成果の取りまとめを行うとともに、その成果を分かりやすく表現して国民に知らせることができるよう、WEB ページや講演資料の作成にも取り組む。

## 4. 研究成果

(1) 自然度の高い西表島西部地域のマングローブ林と、人為の影響の強い沖縄島東海岸のマングローブ林を調査して、マングローブ植物の茎葉と散布体から菌類の分離を試みた。琉球列島のマングローブを構成するヒルギ科3樹種において、茎葉から優占的に分離される樹木内生菌は4菌種あるが、これら菌種が、散布体からは低頻度で分離された。散布体組織における樹木内生菌の種数や総分離率は、いずれも、茎葉の組織よりも明らかに小さかった。このことは、散布体は、低頻度ながら内生菌を寄生させて散布されるといふ点において、漂着し・定着する先で形成されるマングローブ林に菌を運搬する乗り物としての機能を相当程度は果たしていることを意味する。しかし、成木の茎葉における内生菌の多様な種組成や高い分離頻度は、散布体への内生菌寄生頻度を直接に反映したものではないことが示唆される。

一方、ヒルギダマシ科のヒルギダマシにおいては、自生地外の沖縄島の埋め立て地の造成林の茎葉において、天然林の個体の場合とは大きく異なる種組成・分離頻度の菌種が、見いだされた。また、散布体の内生菌分離頻度は極めて低かった。

以上のことから、マングローブ植物の茎葉の内生菌相は、散布体による運搬により伝播可能であるとはいえ、むしろ、周囲のマングローブ林や陸上森林からもたらされる孢子による感染の方が大きく寄与している可能

性がある。

(2) 同一調査地の隣接する個体を比較すると、実生～成木樹冠下部の水没位置の茎葉からは、メヒルギ成木の冠水しない樹冠上部よりも一般に内生菌の総分離率が低く、菌種構成も単純だった。散布体組織からの内生菌分離率はしばしば低かった。散布体や実生苗の菌種組成をみると、メヒルギ成木樹冠上部でふつう優占する内生菌群があまり出現しなかった。また、散布体を時系列的に採集して菌類の分離率や種組成を比較すると、散布体は、樹上で成熟中にも、林床で漂流または定着成長している間にも、内生菌感染が進まなかった。

実験室的な接種試験においては、メヒルギに高頻度で感染している内生菌種6種は、高湿度下で孢子を茎葉の感染部位に塗布すると、いずれも、高い感染応力を示した。

一方、メヒルギ枝枯病菌のような病原菌は、散布体、実生苗、成木を問わず、健全組織からはほとんど分離されなかった。

散布体は低率ながら多様な菌類（主に内生菌類）を感染させて散布されていく点で内生菌の「乗り物」となり得ているが、それらの菌類は、散布体が定着した先で伸長させた茎葉組織には、そのまま優先的に侵入していけるわけではない。茎葉では、しばしば感染能力が非常に高い別の樹木内生菌群に取って代わられていく。しかし、実生苗など低樹高のマングローブ個体の茎葉は、潮汐の影響で冠水することもあり、菌類にとって感染環境が厳しいと推測され、高樹高の成木樹冠に比して内生菌の感染率が低い、すなわち、茎葉組織に内生菌が飽和しない可能性がある。

(3) 自然度の高い西表島のマングローブ林のメヒルギについて、果実内の未熟な種子から、樹上の散布体、漂流している散布体の幼組織、定着間もない稚樹の茎葉、低樹高の成木（潮汐で冠水する）、高樹高の成木の茎葉（潮汐の影響を脱している）にいたる、内生菌相の推移について検討した。

メヒルギの果実は、初夏に主に成木の樹冠上部につき、その位置の茎葉からは多種の内生菌が分離され、内生菌の総分離率も高い。果実内で発芽した幼植物体では、同一枝の茎葉に比して、内生菌の菌種数も分離率も著しく低かった。この幼植物体（散布体）は数ヶ月間樹上で成長し、果実を破って胚軸が長く伸び、翌春に落下して漂流する。この過程を通じて、胚軸・子葉から分離される内生菌の種数・分離率は顕著に上昇しなかった。

漂流後の散布体は、好条件の場所に流れ着くと発根して胚軸を直立させ、成長を始める。こうした稚樹が出す葉は、潮汐により毎日冠水する高さにある。この葉からの内生菌分離

率・菌種数は、成木の樹冠上部よりも著しく低い。時として高率で内生菌が分離される葉もあった。これは、成木の樹幹下部の茎葉と似た傾向であった。散布体時代に特有の内生菌はみいだされなかった。また、散布体の付傷部には病原性の強い病原菌はほとんどなかった。

一方、成木の樹冠上部では、メヒルギ枝枯病の感染・発病による枝の枯れ下がりや、病原の特定されない梢端の壊死が、活発に起こっている。成木の樹幹下部や稚樹では、病原の特定されない梢端の壊死は活発に起こったが、メヒルギ枝枯病は、明らかに発生しているものの激害枝は少なかった。同病病原菌は、果実や散布体の組織からは全くみいだされなかった。

このように、散布体と成木の茎葉では内生菌・病原菌の感染可能性が大きく異なり、したがって散布体は定着先に樹木寄生菌を運ぶ「乗り物」となり得ているが、定着後の茎葉の菌類組成を規定してはいない。一方、稚樹・成木の茎葉の組織にいる内生菌・病原菌は、外部からの孢子感染がその主要な感染経路であり、その過程で、潮汐による冠水が感染・発病に強く影響しているといえる。

#### 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2件)

① 鐘ヶ江裕介・吉崎 走・亀山統一 (2011) 琉球列島におけるヒルギダマシの樹木内生菌相. 樹木医学研究 15, 175-176. 査読有り

② 亀山統一・吉崎走 (2010) 西表島のメヒルギ散布体から分離された樹木内生菌. 樹木医学研究 14, 136-138 査読有り

[学会発表] (計6件)

① 亀山統一 : メヒルギ稚樹の内生菌相への潮汐による冠水の影響. 第124回日本森林学会大会. 2013年03月26日-2013年03月28日. 岩手大学

② 亀山統一・大田翔 : 琉球列島のオオハマボウの茎葉における樹木内生菌相. 樹木医学会第17回大会. 2012年11月10日-2012年11月11日. 京都府立大学.

③ 亀山統一・金城文也・谷口舞・大田翔 : 潮汐による冠水がマングローブ葉の内生菌組成に及ぼす影響. 第123回日本森林学会大会. 2012. 3. 27. 宇都宮大学農学部

④ 吉崎 走・亀山 統一 : 琉球列島におけるメヒルギの樹木内生菌の感染性. 樹木医学会第16回大会. 2011. 11. 26-27. 東京大学農学部.

⑤ 亀山統一・吉崎走・鐘ヶ江裕介 : 琉球列島のヒルギダマシの茎葉・散布体における樹木

内生菌. 日本森林学会第122回大会. 2011. 3. 26-28. 静岡大学

⑥ 鐘ヶ江裕介・吉崎走・亀山統一 : 琉球列島におけるヒルギダマシの樹木内生菌相. 樹木医学会第15回大会. 2010. 11. 13-14. 静岡市グランシップ

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

森林保護学研究室 亀山統一

<http://www.agr.u-ryukyu.ac.jp/wp/kameyama>

高校出前講座

2012. 11. 9. 鹿児島県立大島高等学校 亀山統一「琉球列島の森林・マングローブを守る」1-3年生60名。

琉球大学オープンキャンパス併催「体験アグリサイエンス」(ひらめき★ときめきサイエンス ようこそ大学の研究室へ KAKENHI) 亀山統一「マングローブの樹木と微生物を観察しよう」2011. 7. 23, 2012. 7. 21 実施

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

亀山 統一 (Kameyama Norikazu)

琉球大学・農学部・助教

研究者番号 : 30264477

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし