

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380083

研究課題名(和文) 南西諸島の自然林および人工林の外生菌根菌群集の解明

研究課題名(英文) Study of mycorrhizal community in natural and artificial forests in Southern Islands of Japan

研究代表者

寺嶋 芳江(Terashima, Yoshie)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授

研究者番号：20521909

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 6,000,000円

研究成果の概要(和文)：西表島(大陸島)と大東島(海洋島)のリュウキュウマツ林の菌根菌群集を調べた。各島から土壌サンプルを50個ずつ採取し、リュウキュウマツ種子を植えて育苗した。rDNAのITS領域の塩基配列を用いて菌種を同定した結果、両島ともにSuillus granulatusが高頻度で検出された。一方、西表島では非風散布の菌根菌Rhizopogon sp.やCenococcum geophilumが検出されたのに対し、大東島では検出されなかった。これは海洋島の大東島には、非風散布菌根菌が入り込むことができなかったことを示唆していた。

研究成果の概要(英文)：We examined communities of mycorrhizal fungi in the Pinus luchuensis forests in the two islands, Iriomote-jima (continent island) and Daito-Jima (marine island). Fifty soil samples from each island were gathered. Into the soil the seeds of the pine were planted and nursed. By using the base sequence of the ITS region of rDNA, Suillus granulatus was detected with high frequency in both islands. Meanwhile, while the non-wind dispersal mycorrhiza Rhizopogon sp. and Cenococcum geophilum are detected in Iriomote, they were not detected in the Daito Island. This meant in the Daito Island, an oceanic island, non-wind dispersal mycorrhizal fungi could not be invaded.

研究分野：菌類生態

キーワード：菌根菌 沖縄 リュウキュウマツ スダジイ 大陸島 海洋島

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 南西諸島は台風銀座と呼ばれるほど、他の日本各地よりも年間の台風接近が多いうえ、勢力の強い台風が来襲することで知られている。このため、海岸はリュウキュウマツを主とする人工林で囲まれており、風、潮、飛砂の害から人間生活の場が守られている。また、自然度の高い環境ではイタジイやオキナワウラジロガシを主体とする常緑広葉樹林が広がり、貴重な固有動植物の棲みかとなっている。こうした森林は、水源涵養、観光資源、独特の自然景観およびレクリエーションの場の提供などを通して、地域住民の生活に欠かせない存在となっている。

(2) マツ科やブナ科の樹木の細根には、外生菌根菌(以下、菌根菌、寺嶋・大賀編 2004, 海青社)が普遍的に共生していることが知られている。菌根菌は樹木の細根と共に細根の先端に菌根という構造物を作っている。樹木は菌根を通して菌根菌に光合成産物の一部である炭素源を供給する代わりに、必要とする養分の大部分を菌根菌から受け取っている(図1、Smith & Read 1997, *Mycorrhizal symbiosis*, Academic Press)。菌根菌の菌糸は細根に比べて 1/10 の細さしかなく、細根が進入できないような狭い土壌空間に入り込み、水分、リン、窒素などを土壌中から吸収する能力があり(Allen 1991, *The ecology of mycorrhizae*, Cambridge Univ Press)、樹木はその能力を手に入れるために菌根菌との共生を進化させてきた。実際の野外森林でも、菌根菌は樹木実生の定着を促進し、森林の形成に決定的な役割を果たしていることが明らかにされている(Nara & Hogetsu 2004, *Ecology*; Nara 2006, *New Phytol*)。森林生態系における菌根菌の重要性が明らかになるにつれ、世界の各地の森林において、どのような菌根菌が存在しているのかが調べられるようになった。一方、菌根菌の多くは子実体(キノコ)を形成するものの、その

発生時期は限られ、発生頻度は低いため、正確な種組成を知るにはキノコ調査だけでは不十分である。しかし、近年のDNA解析技術の進歩により、地中の菌根や孢子から菌根菌の群集構造を調べることが可能になった。

(3) 菌根菌群集に関する研究は、これまで亜寒帯、温帯のブナ科やマツ科の森林(Ishida et al. 2007, *New Phytol*)を中心に行われてきた。また、近年、熱帯におけるフタバガキ科やマメ科の森林においても報告されている(Peay et al. 2010, *New Phytol*)。こうした研究によって、世界の主要な森林の土壌中には菌根菌が普遍的に分布すること、地域や樹種によって固有の菌根菌群集が存在することなどが明らかになりつつある。残念ながら、亜熱帯地域の菌根菌群集に関する研究は無く、南西諸島にどのような菌根菌が存在しているのかですら分かっていない。

## 2. 研究の目的

(1) 南西諸島のリュウキュウマツ林とイタジイ・オキナワウラジロガシ林において、DNA解析を組み合わせた最新の手法で菌根菌群集を調べ、どのような菌根菌が存在しているかを明らかにする。調査地には、大陸と陸続きであった大陸島である西表島と、これまで一度も大陸とは関係を持たなかった海洋島である大東島とを選ぶ。得られたデータをもとに、固有の菌根菌の割合、菌根菌の多様性や種組成の違いなどについて解析し、南西諸島の菌根菌群集の特徴を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) マツ科は最も原始的な針葉樹といわれ、2億500万年前~1億3500万年前を起源とし、イタジイを含む照葉樹林は120万~80万年前には既にアジア大陸に成立していたとされる。南西諸島は、40万年~2万年前には大陸と陸続きであった。大陸と地続きであれば、風媒により拡散するマツ科の種子だけでなく、動物散布される照葉樹の実(ドングリ)

も新たな地に運ばれやすい。菌根菌も同様に、大陸と陸続きであれば、胞子を風散布する地上性のキノコ類だけでなく、地中に子実体を形成して動物に胞子散布を依存するトリュフ類も容易く移動できるであろう。しかし、海洋島ではこのような方法での種子や胞子の拡散は難しい。事実。大陸島の西表島ではリュウキュウマツとイタジイは天然林を構成しており、海洋島の大東島では両樹種の天然林は存在しない。両島の菌根菌については明らかとなっていないが、大東島には宿主が無かったことから、もともと菌根菌は存在していなかった可能性が高い。現在大東島に生育する両樹種は大正時代の 1920 年頃に人工造林されたものである。

(2) 本研究では、自然成立したリュウキュウマツ林とイタジイ・オキナワウラジロガシ林(以下、イタジイ林)の菌根菌群集を明らかにするため、西表島の天然林に調査地(各 1 ha)を設ける。また、自然林と人工林の菌根菌群集の比較を行うため、大東島においても両樹種の森林で調査地を設ける。4つの調査地内で樹木の種組成、樹齢、現存量(樹高と胸高直径)などを測定し、調査林分の生育状況を明らかにする。同時に、4調査地で土壌サンプル(縦 5cm×横 5cm×深さ 10cm)を各 50 個ずつ採取し、以下の手順で土壌中の菌根と胞子の種を同定、密度を計測する。

採取した土壌中に含まれる菌根を観察し、各菌根形態タイプから DNA を抽出して、菌種同定に適した DNA 領域(rDNA の ITS 領域)の塩基配列を決定する。GenBank などの塩基配列データベースと比較することにより、菌種を同定する(Horton & Bruns 2001, Mol Ecol)。土壌中に胞子の状態で存在する菌根菌については、採取土壌にリュウキュウマツ苗を生育させることにより(バイオアッセイ実験)胞子から苗に菌根菌を感染させた後、上記と同様な手法で同定する。

成木の菌根から得られたデータをもとに、

各林分の菌根菌群集の種組成や多様性、風散布種と動物散布種の比率、固有種の比率などについて明らかにする。森林が破壊された状態では土壌中の胞子が主要な菌根菌の感染源となることから、バイオアッセイ実験の結果から、森林が破壊された場合の菌根菌群集を推定する。西表島と大東島の比較を行い、菌根菌の導入による森林の活性化の可否について検討を行う。南西諸島の主要な菌根菌群については、他の DNA 領域も解読し、関連する塩基情報とともに分子系統解析を行う。得られた系統関係から、南西諸島の主要菌種の起源や生物地理などを推定する。得られた知見は学術論文としてとりまとめる。

#### 4. 研究成果

(1) 外生菌根菌(以下、菌根菌)は森林の優占樹木と共生してその成長を助け、森林の安定に大きく寄与しているため、菌根菌群集に関する研究は数多く行われてきた。しかしその知見は温帯林や冷温帯林に集中し、亜熱帯林に関する菌根菌の知見は乏しいのが現状である。そこで本研究では、亜熱帯林が成立している大陸島の西表島広葉樹林と針葉樹林、海洋島の大東島針葉樹林において菌根菌群集を調べ、共生樹種や島の地史が菌根菌群集に与える影響を明らかにすることを目的とした。上記各林分から 50 の土壌コアを採取し、そこに含まれる菌根を DNA 解析することで菌種の同定を行った。その結果、調査地全体で 108 種の菌根菌が同定され、ベニタケ科とイボタケ科の 2 科がいずれの林分でも優占していた。大東島では風散布が行われない *Cenococcum* やショウロ属が出現しなかった。また、群集の類似度を検定した結果、大陸島と海洋島では菌根菌群集に有意差が認められなかったが、宿主樹種間では有意差が存在した。さらに同一菌種の地理的分布をデータベースで確認すると、西表島では中国や日本本土と共通する菌根菌種が多く認められたのに対し、大東島では東南アジアとの

共通種の割合が高かった。

(2) 琉球諸島では、大陸島と海洋島という異なる地史・環境に、熱帯要素と温帯要素の樹木が共存する複雑な亜熱帯林が成立している。先行研究により、琉球諸島の成木の外生菌根菌(以下菌根菌)群集は大陸島である西表島と海洋島である大東島の間で異なる傾向が示された。成木の菌根からは菌糸体が土壤中に伸びており、新たに伸長した根や更新実生への感染源となる。一方、土壤中には休眠状態の菌根菌の孢子が存在しており、菌根菌個体群の維持や攪乱後の実生の感染源として重要な役割を果たすことが知られている。そこで本研究では、西表島(大陸島)と大東島(海洋島)の埋土孢子の菌根菌群集を調べ、地史・環境が埋土孢子の菌根菌群集に与える影響を明らかにすることを目的とした。西表島と南大東島のリュウキュウマツの優占する人工林の2林分を調査地とし、各林分において5×5×10cmの土壌サンプルを50個採取した。サンプリングした土壌から根などの粗大有機物を取り除き、バイオアッセイに供した。バイオアッセイは、チューブに土壌を入れ、リュウキュウマツまたはアカマツの種子を植えて5~6カ月育苗した。各苗の乾重を計測し、根系を実体顕微鏡下で観察して菌根の形態類別を行った。各実生で見られたそれぞれの菌根形態タイプについて、rDNAのITS領域の塩基配列を用いて菌種の同定を行った。その結果、西表島と大東島ともに高頻度で検出されたのは *Suillus granulatus* であった。一方で、西表島では *Rhizopogon* sp. や *Cenococcum geophilum* が検出されたのに対し、大東島では検出されなかった。これは大東島が海洋島であり、非風散布の菌根菌が入り込むことができていないことが影響していると考えられた。

#### 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 0件)

[学会発表](計 2件)

村田政穂・山崎隼也・寺嶋芳江・奈良一秀，  
琉球諸島のリュウキュウマツ林における外生菌根菌の埋土孢子群集，日本菌学会第59回大会，2015年5月15-17日，那覇市てんぶす館(沖縄県那覇市)

山崎隼也・寺嶋芳江・奈良一秀．琉球諸島の外生菌根菌－異なる森林の比較－．第125回日本森林学会大会2014年3月25日，大宮ソニックシティ(埼玉県さいたま市)

[図書](計 0件)

[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：  
出願年月日：  
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

寺嶋 芳江(TERASHIMA, Yoshie)  
琉球大学・熱帯生物圏研究センター・教授  
研究者番号：20521907

##### (2) 研究分担者

奈良 一秀(NARA, Kazuhide)  
東京大学・新領域創成科学研究科・准教授  
研究者番号：60270899

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：