

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870163

研究課題名(和文) 絶滅危惧種ヤクタネゴヨウの保全に資する菌根菌の探索

研究課題名(英文) Survey of ectomycorrhizal fungi on endangered Pinus amamiana forests

研究代表者

村田 政穂 (Murata, Masao)

東京大学・新領域創成科学研究科・特任研究員

研究者番号：20582381

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：ヤクタネゴヨウは、屋久島と種子島にのみ確認されている固有種である。ヤクタネゴヨウの現存する個体数は約2,300個体と推定されており、絶滅危惧IB類(EN)に指定されている。申請者は、樹木の生育に必要な不可欠である外生菌根菌を4つのヤクタネゴヨウ林で調べ、*Cenococcum geophilum*やベニタケ科やイグチ科、シロソウメンタケ科などが高頻度で検出されたことを明らかにした。また、4つのヤクタネゴヨウ林分全体で253種の外生菌根菌が存在し、トガサワラだけでも204種以上の外生菌根菌が共生していると推定した。

研究成果の概要(英文)：Pinus amamiana is restricted to localities on the Yakushima island and on Tanegashima island in Japan. Previous censuses of P. amamiana estimated the remaining number of individuals at around 2,300. With increasing awareness of its extinction risk, P. amamiana is now designated as an Endangered species IB (EN). I studied Ectomycorrhizal (ECM) fungal communities on four P. amamiana forests. Dominant ECM fungi found on the existing roots in P. amamiana forests included *Cenococcum geophilum*, Russulaceae, Boletaceae, Clavulinaceae species, all of which are not specific to P. amamiana. The richness estimator for ECM fungi on these four forests and only P. amamiana was at least 253 and 204, respectively.

研究分野：森林保護学

キーワード：絶滅危惧種 外生菌根菌

1. 研究開始当初の背景

人間活動や環境変動、病害虫によって被害を受けている森林は多く、衰退や絶滅が危惧される樹木も少なくない。樹木は森林を形成することで他の多くの生物へ生息場所を提供しており、一つの樹木の衰退や絶滅が及ぼす影響は測り知れない。そのため、危機的状況にある樹木の保全・保護は重要である。しかし、これまでの樹木の保全・保護研究では、病害虫や病原菌に着目されることはあっても、その他の微生物が考慮されることはなかった。一方、全ての樹木は菌根菌という土壤中の菌類と共生し、菌根菌から養分を受け取ることによって生きていることが明らかになってきた。その依存度は極めて高く、樹木の成長に必要なリンや窒素の9割以上は菌根菌から供給されており、菌根菌に感染しなかった樹木が自然条件下で健全に生育することはない。事実、攪乱跡地の研究では、適合する菌根菌が土壤中に存在する場所ではしか樹木の定着は見られなかった(Nara 2006)。こうした研究成果を考慮すると、対象樹木を保全・保護するためには、そこに共生する菌根菌を含めて対応しなければならないのは明らかであると考えた。

すでに成立した森林には多様な菌根菌が生息し、一つの樹種に100種を超える菌種が共生することも珍しくない。ただし、特定の樹木にしか共生しない菌種も多く、菌種によって樹木に与える影響は大きく異なる。そのため、対象となる樹木にどのような菌根菌がどれくらい共生しているのかを明らかにすることは、菌根菌を活用した樹木の保全と保護にむけた最初のステップとして重要である。モデルケースとして、申請者はまず絶滅危惧種のトガサワラ (*Pseudotsuga japonica*) の菌根菌相を解明する研究を行い、トガサワラに特異的な菌根菌の発見し、その菌が実生の生育に関与していることを示す一定の成果を得た (Murata et al. 2013)。本研究課題では、絶滅危惧種のヤクタネゴヨウ (*Pinus amamiana*) をさらなるモデルケースとして菌根菌相の解明に取り組んだ。

ヤクタネゴヨウは日本固有の針葉樹で、鹿児島県の種子島と屋久島にのみ生育が確認されている (金谷 2010)。現存している個体数は約2,300個体となっており、絶滅危惧IB類 (EN) に指定されている。現在、残存林分はいずれも営林署の保護林として厳重に管理されている。ヤクタネゴヨウ減少の直接的な要因は森林伐採やマツ材線虫病による枯損であるが、残存する個体からの天然更新実生が少ないことも大きな減少原因の一つとされる。

2. 研究の目的

ヤクタネゴヨウ林分内の成木に共生する菌根菌の種構成や多様性などの特徴を明らかにする。ヤクタネゴヨウ林分には、ツガやスダジイ、ウラジロガシなども高頻度で出現

するため、こうした他の樹木の菌根菌相とヤクタネゴヨウの菌根菌相を比較することで、ヤクタネゴヨウに特異的な (ヤクタネゴヨウだけに出現する) 菌根菌の存在を明らかにする。

3. 研究の方法

調査は屋久島で2林分 (平内と大川林道) と種子島で2林分 (早稲田川と犬城) の計4林分で行った。各林分のヤクタネゴヨウ成木の周囲において土壌サンプル (5×5×10cm) を平内では41ヶ所、大川林道では21ヶ所、早稲田川では32ヶ所、犬城では10ヶ所採取した。各サンプリング地点は独立性を確保するため約5m以上離し、それぞれの位置をGPSで記録した。また、サンプリングを行った一部の地点では、ヤクタネゴヨウを中心とした半径5m以内の樹木について、毎木調査を行った。持ち帰ったサンプルは処理するまでの間冷蔵保管した。各サンプルから根を洗い出し、実体顕微鏡下で菌根の形態類別を行った。各サンプル中の全ての菌根形態タイプからDNA解析用の菌根端サンプルを複数選び、あらかじめCTABを入れたチューブに入れて保存し、CTAB法によってDNAを抽出した。菌特異的プライマー (ITS1F と ITS4 または LB-W) によって、rDNA の ITS (internal transcribed spacer) 領域を増幅した後、ダイレクトシーケンスを行ない、既存の塩基配列データベース (GenBank など) で同源性検索して菌根菌の種同定を行った。さらに、上記の試験のDNA抽出サンプルより、葉緑体DNA (trnL-F 領域と rbcL 領域) を増幅し、シーケンスによる同定結果と毎木調査の結果より宿主樹種を特定した (Tedersoo et al. 2008)。

データの解析は得られた菌根菌の種の出現頻度から、生息する全菌種数を Estimate S によって推定した。また、菌根菌群集を樹種ごとに分けて多変量解析 (NMDS) し、菌根菌の種構成におよぼす樹種や採取地の影響を評価するとともに、ヤクタネゴヨウに特異的な菌種の有無を明らかにした。

4. 研究成果

ヤクタネゴヨウ林から採取した土壌中で見つかった菌根を実体顕微鏡下で観察し、このうち682のDNAサンプルをDNA解析に用い、シーケンスを行った。その結果101種の菌根菌がヤクタネゴヨウ林で検出され、ヤクタネゴヨウだけでも42種の菌根菌が検出された。Estimate Sによる推定菌根菌種数は林分全体では253種、ヤクタネゴヨウだけでは204種以上であった (図1)。

検出された菌根菌群集は数種の複数頻度で出現した菌種と大多数の1つの土壌サンプルにしか出現しなかった菌種で構成されていた。これは菌根菌の典型的な群集構造であった (Horton and Bruns 2001, Ishida et al. 2007)。ベニタケ科 (48%) が最も高頻度で出現し、*Cenococcum geophilum* (39%)

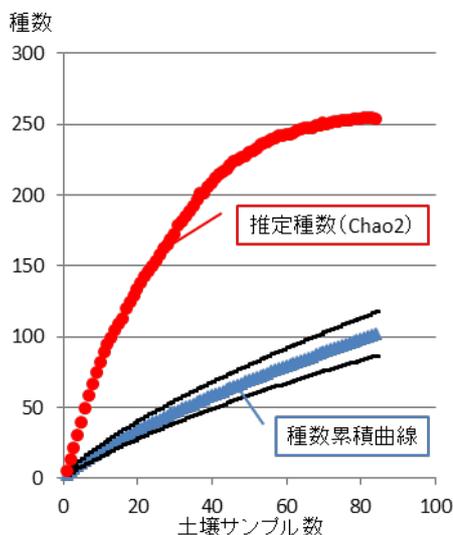


図1 ヤクタネゴヨウ林分の菌根菌の種数累積曲線と推定種数

やイグチ科 (36%)、シロソウメンタケ科 (17%)、シヨウロ科 (14%)、イボタケ科 (13%) も高頻度で出現した (図2)。最も多くの種数が検出されたのはベニタケ科 (30種) であり、次いでイグチ科 (19種)、シロソウメンタケ科 (8種)、イボタケ科 (6種)、テングタケ科 (5種) が多く出現した。先行研究では、ベニタケ科やイボタケ科は温帯林で優占することが報告されており (Kennedy et al. 2003, Horton et al. 2005, Ishida et al. 2007, Morris et al. 2009)、ヤクタネゴヨウ林は典型的な温帯林の菌根菌によって構成されていた。

Cenococcum geophilum やベニタケ科、イグチ科、シロソウメンタケ科、イボタケ科はすべての外生菌根性宿主樹木で検出された。一方で、シヨウロ科はヤクタネゴヨウでのみ高

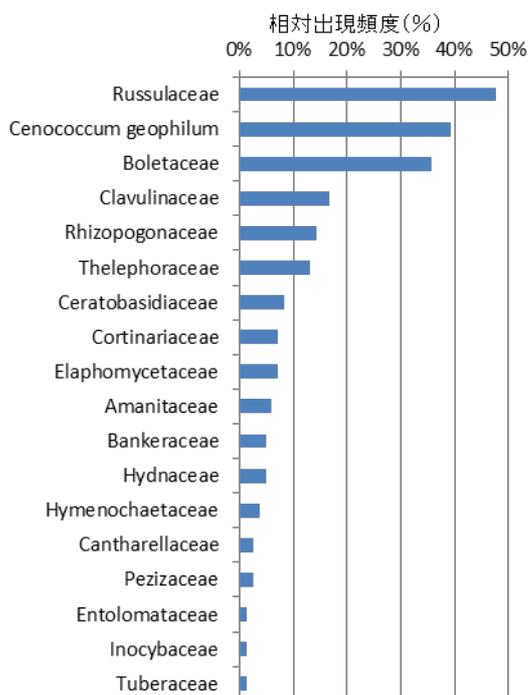
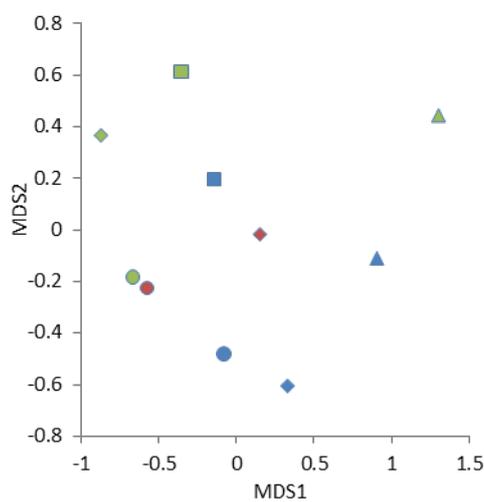


図2 ヤクタネゴヨウ林分で検出された菌根菌(科)の出現頻度

頻度で検出され、ツチダンゴ科はブナ科でのみ検出された。NMDSによる多変量解析によって、菌根菌群集は宿主樹木と採取林分で異なる傾向が示された (図3, Stress=0.089)。PerMANOVAでも菌根菌群集は宿主樹木間と調査林分間で有意に異なっていた ($P < 0.01$)。菌根菌群集に対する宿主の影響は先行研究でも報告されている (Ishida et al. 2007, Tedersoo et al. 2008, Morris et al. 2009, Smith et al. 2009)。本研究のヤクタネゴヨウ林でも同様の傾向が示された。また、調査林分間の違いも、屋久島には自生しているツガが、種子島にはなかったことが影響している可能性が考えられた。



茶:ツガ 緑:ブナ科 青:ヤクタネゴヨウ
 〇:屋久島平内 ◇:屋久島大川林道
 □:種子島早稲田川 △:種子島犬城

図3 ヤクタネゴヨウ林分で検出された菌根菌のNMDS解析

ヤクタネゴヨウで検出された 42 種の菌根菌のうち、ヤクタネゴヨウでのみ検出された菌は 26 種であり、そのほとんどが 1 つの土壌サンプルでのみ検出された菌であった。一方で、シヨウロ属の 1 種とイボタケ科の 1 種は高頻度で検出された。シヨウロ属の菌根菌はマツ科の樹木と特異的な関係を持つことが知られており、この菌はヤクタネゴヨウ林分においてヤクタネゴヨウと特異的に共生していることが示唆された。マツ科と特異的な関係を持つシヨウロ属の菌根菌は、山火事やがけ崩れといった大規模なかく乱が起こるまで土壌中に胞子の状態で長期に保管されていることが多く、かく乱後の遷移初期に定着したマツ科樹木に優占的に感染している (Taylor and Bruns 1999; Bruns et al. 2009)。ヤクタネゴヨウも陽樹でかく乱後の遷移初期に定着する樹種であることが想定されており、本研究で検出されたシヨウロ属菌がヤクタネゴヨウの初期成長に重要な役割を果たしている可能性が考えられた。また、他の国内外の多くのマツ属の林分では、ヌメリイグチ属の菌根菌が多く検出されており、ヤクタネゴヨウと近縁のゴヨウマツやハイ

マツにおいても特異的な関係を持ったヌメリイグチ属菌が検出されているにもかかわらず (Hirose et al. 2010)、ヤクタネゴヨウ林分では全く検出されなかった。このことはヤクタネゴヨウ林分の菌根菌の種構成の特徴であるが、何に起因しているかはわからず、今後の検討課題である。

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)

[学会発表](計 2 件)

(計 2 件)

村田政穂・金谷整一・奈良一秀 ヤクタネゴヨウ林分における外生菌根菌の埋土胞子群集．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), 2016 年 3 月 24 日)

村田政穂・金谷整一・奈良一秀 ヤクタネゴヨウ林分の外生菌根菌群集．第 126 回日本森林学会大会 (北海道大学 (北海道札幌市), 2015 年 3 月 28 日)

[その他]

ホームページ等

https://sites.google.com/a/edu.k.u-tokyo.ac.jp/nara_lab/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村田 政穂 (MURATA, Masao)

東京大学大学院新領域創成科学研究科・特任研究員

研究者番号：20582381