

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H04516

研究課題名(和文) 南西諸島地史に基づく固有種リュウキュウマツと菌根菌群集の関係解明

研究課題名(英文) Elucidation of the relationship between endemic Ryukyu pine and mycorrhizal fungal communities based on the geological history of the Nansei Islands

研究代表者

寺嶋 芳江 (Terashima, Yoshie)

静岡大学・イノベーション社会連携推進機構・特任教授

研究者番号：20521909

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：高島と比べて、低島では、「動物散布種の菌」や「非風散布種の菌」は全く検出されず、「風散布種の菌」のみが存在していた。これは、過去に低島が海面下に沈み、菌根菌が一掃されたためと考えられる。全ての高島から「動物散布種の菌」や「非風散布の菌」が検出されたことから、過去に、高島間や大陸との間に陸橋が形成されていたと考えられる。そのような菌種が現在も生き残っていることは、移入後に水没がなかった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

植物や動物では、地球規模での生物多様性分布について数多くの研究成果が蓄積され、生物多様性の理論構築や保全活動に反映されている。本研究は、菌根菌分野においてこれまで未知であった亜熱帯地域の菌根菌群集構造を解明しようとするものである。本研究で得られる亜熱帯での菌根菌群集の知見は、既知の温帯、熱帯での知見と統合することにより、地球規模での菌根菌の多様性分布の解明に道を開く上で、重要な学術的意味をもつ。

研究成果の概要(英文)：Compared to high-island, "animal-spreading fungi" and "non-air-spreading fungi" were not detected at all on the low islands, and only "wind-spreading fungi" were present. This is probably because the low-island was submerged under the sea surface in the past and all mycorrhizal fungi were wiped out. Since "animal-scattering fungi" and "non-air-scattering fungi" were detected on all high-islands, it is considered that overpasses have been formed between high-islands and continents in the past. The survival of such strains today suggests that there was no submergence after transfer.

研究分野：菌類生態

キーワード：菌根菌 外生菌根菌 菌根菌集団 リュウキュウマツ 南西諸島 高島 低島

## 1. 研究開始当初の背景

九州南部から台湾以北に至る約 1,200 kmに渡る島嶼から成る南西諸島の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。一方、マツ科樹木の細根には、外生菌根菌<sup>1)</sup>(以下、菌根菌)が普遍的に共生している。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<sup>2)</sup>(図1)。菌根菌の菌糸は細根に比べて 1/10 の細さであり、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る<sup>3)</sup>ことから、樹木はその能力を利用す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<sup>4,5)</sup>。

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。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を中心に行われてきた<sup>6)</sup>。また、近年、熱帯におけるフタバギ科やマメ科の森林においても報告されている<sup>7)</sup>。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。しかし、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。

われわれは、平成 24-26 年度科研費基盤 B「南西諸島における自然林と人工林の菌根菌群集の解明」研究において、南西諸島の大陸島と海洋島の一部のこれら両森林を比較し、成立由来が異なる両島間で菌根菌群集が異なることを見出した。すなわち、かつて大陸と地続きであった大陸島における菌根菌群集には大陸の植物と動物が胞子を運ぶ影響が大きく、海底から隆起した海洋島に人為的に移入された樹木には風媒に起因する菌根菌群集が多いことを見出した<sup>8)</sup>。これらの事実は仮定的推測の範疇をでなかったが、われわれの研究により、事実として明らかにされた。

菌根菌群集を調査する手法として、子実体(きのこ)に基づく研究が主流であった。しかし、菌根菌の多くは子実体を形成するものの、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きのこ調査だけでは不十分である。これは、近年の DNA 解析技術の進歩により、地中の菌根や胞子から菌根菌の群集構造を調べることが可能になった。

## 2. 研究の目的

本研究では、過去に大陸と地続きであり、大陸の植生と動物の影響の強い南西諸島大陸島において、沈降と隆起を繰り返してきた島嶼の成り立ちと菌根菌の存在との関係を明らかにする。大陸島は、位置により北部、中部、南部に分けられる。さらに、成因に基づく地質構造により、古期岩類や火山岩類から成る高島と、サンゴ礁由来の石灰岩からなる低島に分類される。調査地として、表1のように、高島あるいは低島の北部、中部、南部それぞれから、1、3、3島ずつを選定する。各調査地における林況調査を行うとともに、菌根菌群集を解析する。手順としては、菌根の形態的観察と DNA 解析を組み合わせた菌根菌群集の解明、土壌中の菌根菌胞子の存在を実生苗で明らかにするバイオアッセイ試験を行う。

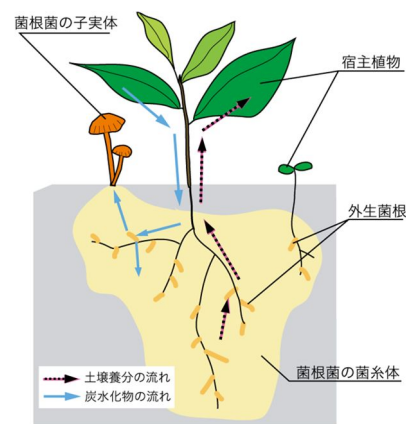


図1 外生菌根共生の模式図

根に共生する菌根菌は土壌中に菌糸体を張り巡らせ、根の代わりとして土壌養分を効率的に吸収する。多くの樹木は、成長に必要なリンや窒素の9割以上を菌根菌に依存している。その見返りとして、樹木は光合成産物の約2割を菌根菌に直接供給する。こうした物質のやり取りを通じた密接な相利共生が森林を支えている。

得られたデータをもとに、固有の菌根菌の割合、菌根菌の種組成と多様性の違いなどについて考察し、南西諸島の菌根菌群集の特徴を島嶼の成り立ちとの関係から明らかにする。

### 3. 研究の方法

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する。リュウキュウマツは南西諸島のみで生育する固有種である。南西諸島は、40万年～2万年前には大陸と陸続きであり、その後大陸から隔離された島、また造山運動や火山活動、氷河期における海面変化の影響で、沈降や隆起を繰り返した島がある。大陸と陸続きであれば、風媒や動物の餌としてマツ科の種子は新たな地に運ばれやすい。大陸と陸続きであれば、菌根菌の胞子も同様に、植物の拡散とともに根に共生して生息域を拡大させる、あるいは地中に子実体を形成して動物に食べられて胞子散布域を広げるトリュフ類も、胞子を風散布する地上性のきのこ類と同様に容易に移動できるであろう。しかし、大陸と隔離され、沈降と隆起を繰り返してきた島嶼では、このような方法による種子や胞子の拡散は難しい。事実、まとまったリュウキュウマツ林の存在は、大部分が高島のみで確認されている。現在有人島である低島にはリュウキュウマツは人工的に移入された。低島の菌根菌については明らかとなっていないが、もともと菌根菌は存在していなかった可能性が高い。

本研究では、島嶼の成立に至る地史を調べ、地質とリュウキュウマツ林の菌根菌群集を明らかにする。北部、中部、南部の各地域において高島と低島を選定し、各島に調査地（各1ha）を設ける。調査地内で樹木の種組成、胸高直径に基づく現存量などを測定し、リュウキュウマツの生育状況を明らかにする。同時に、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の形態を観察し、各菌根形態タイプ<sup>9)</sup>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（図2）。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<sup>10,11)</sup>。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実生苗を生育させることにより（バイオアッセイ実験、図3）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基に、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により、森林が破壊された場合の菌根菌群集を推定する。北部、中部、南部の3地域ごとの高島と低島の比較を行い、島の成立とマツ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、関連する塩基配列情報とともに分子系統解析を行う。得られた系統関係と既知の温帯の系統関係を比較し、南西諸島の主要菌種の起源や生物地理などを推定する。

各島のリュウキュウマツ林における菌根菌の出現データから種の豊かさ、現存種数、多様性指

表1 南西諸島の分類

地域区分	地質区分	
	高島	低島
北部	屋久島	種子島
中部	奄美大島	粟国島
	沖縄本島北部	伊江島
	伊平屋島	与勝諸島
	伊是名島	沖縄本島中南部
	慶良間諸島	
南部	久米島	
	石垣島	宮古諸島
	西表島	竹富島
	与那国島	黒島
	尖閣諸島	波照間島

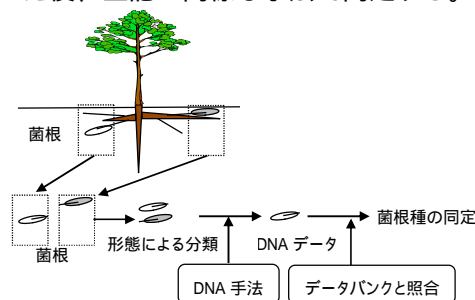


図2 成木菌根の菌根菌種の同定方法

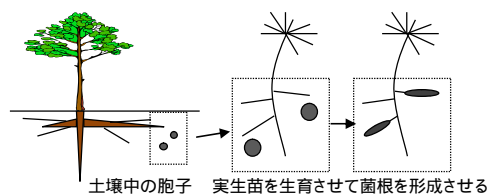


図3 バイオアッセイ実験  
(胞子による実生苗への菌根形成による胞子釣り上げ方法)

数などを決定するとともに、地史、林況や樹種が菌根菌群集に及ぼす影響について、主成分分析などの手法を用いて定量的に明らかにする。また、北部、中部、南部の地域差、および高島と低島における菌根菌について、風媒散布種と動物散布種の比率、固有種の比率の違いについて明らかにする。

バイオアッセイ試験の結果から、両島のリュウキュウマツ林の菌根菌の埋土孢子群集について、上記と同様のデータ解析を行う。成木の根の菌根の結果と比較することで、埋土孢子を形成しやすい菌種を明らかにするとともに、多様性や菌種組成などについても比較し、攪乱後の森林の菌根菌群集について推定する。

主要な菌種（例えば、リュウキュウマツではヌメリイグチ類・ショウロ類など）については得られたシーケンスデータと既知のデータベース上の関連する配列データをまとめてデータセットを構築し、マルチプルアラインメント、最尤法やベイズ法による系統樹を作成する。得られた系統樹に地理情報を入力し、南西諸島で得られた菌種の系統的な位置を明らかにするとともに、その起源や進化について考察する。

#### 4. 研究成果

高島と比べて、低島における菌根菌の種数は少なく、多様性は低かった。一方、低島における約半数の種数は高島と共通していた。低島では、「地下生菌」と呼ばれる菌類グループのような「動物散布種の菌」や子実体（きのこ）を作らない「非風散布種の菌」が全く検出されなかった。そのため、低島の菌根菌群集は「風散布種の菌」のみで構成されており、特にベニタケ属やカレエダタケ属が優占していた。「風散布種の菌」と「非風散布種の菌」の出現頻度について低島と高島を比較したところ、有意差が認められた（表2、図4、 $p=0.02$  Fisher 正確検定による）。

全ての高島から「動物散布種の菌」と「非風散布種の菌」が検出された。このことは、氷期の海面が低い時代には、高島間や大陸との間に陸橋が形成されていたものと考えられ、この陸橋をとおり、動物や植物の移動があったものと推測される。「動物散布種の菌」と「非風散布の菌」が現在も残存していることは、移動後現在まで海没がなかったことも示唆される。

一方、低島も海面が低い時代に陸橋でつながり、動物散布種なども移入可能であったはずである。また、低島の伊是名島における、黒田ら<sup>13)</sup>による土壌中の花粉化石の研究では、最終間氷期以前の地層からマツ属の花粉が多量に検出されている。このことから、低島では海没以前にはマツ属が生育・分布し、菌根菌と共生していたと推測される。

しかし、低島において現在成立しているリュウキュウマツ林は、1680年代以降に沖縄本島から人工的に導入・植林されたものであった。また、その菌根菌群集は全て風散布種で構成されていた。これらから、低島は過去のいずれかの時代に海面下に水没し、菌根菌が全滅したためとも考えられる。

以上から、土壌中の菌根菌を調べ、「風散布種の菌」および「非風散布種の菌」の有無を明確することにより、その島が最終間氷期または後氷期の海面上昇により、海面下に水没したか否か、および陸橋によって高島や大陸と繋がったか否かを判断する指標になり得る。

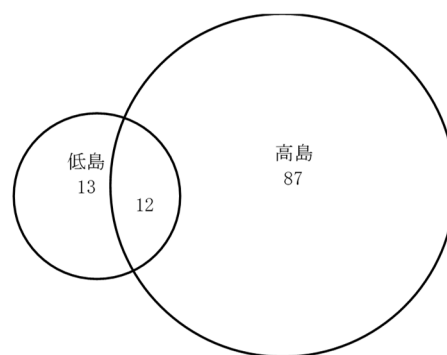


図4 低島と高島の菌根菌種数の共有状況<sup>12)</sup>

表2 菌根菌の種組成（出現頻度）<sup>12)</sup>

	高島	低島
風散布	81	61
非風散布	13	0

#### 引用文献

- 1) 寺嶋芳江, 2004, 第一章第四節 菌根菌, 大賀祥治編 キノコ学への誘い, 海青社
- 2) Smith SE, Read DJ, 1997, Mycorrhizal Symbiosis 2nd Edition, Academic Press, London
- 3) Allen MF, 1991, The ecology of mycorrhizae, Cambridge Univ Press
- 4) Nara K, Hogetsu T, 2004, Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species, *Ecology* 85 (6): 1700-1707
- 5) Nara K, 2006, Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession, *New Phytol* 169: 169–178
- 6) Ishida TA, Nara K, Hogetsu T, 2007, Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer–broadleaf forests, *New Phytol* 174: 430 – 440
- 7) Peay KG, Kennedy PG, Davies SJ, Tan S, Bruns TD, 2010, Potential link between plant and fungal distributions in a dipterocarp rainforest: community and phylogenetic structure of tropical ectomycorrhizal fungi across a plant and soil ecotone, *New Phytol* 185 (2): 529-542
- 8) 山崎隼也・寺嶋芳江・奈良一秀, 2014, T15-02 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講演要旨集 169
- 9) Agera R, 1987-2002, Colour Atlas of Ectomycorrhizae, Einhorn-Verlag+Druck GmbH: Muenchen Einhorn Verlag
- 10) Horton TR, Bruns TD, 2001, The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black box, *Mol Ecol* 10(8): 1855-1871
- 11) Nara K, Nakaya H, Wu B, Zhou Z, Hogetsu T, 2003, Underground primary succession of ectomycorrhizal fungi in a volcanic desert on Mount Fuji, *New Phytol* 159: 743 –756
- 12) 安井 瞭・寺嶋芳江・伊藤光沙・ヘルベルト・奈良一秀, 2018, リュウキュウマツ林の菌根菌群集から探る琉球列島の海没履歴, 日本第四紀学会 2018 年大会 (東京) p36
- 13) 黒田登美雄 古川博恭 大照明徳 榎並信行 加藤俊典, 1990, 沖縄県伊是名島における花粉分析による沖積層の区分について, 日本地質学会学術大会講演要旨 97th: 244

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Miyamoto Yumiko, Terashima Yoshie, Nara Kazuhide	4. 巻 24
2. 論文標題 Temperature niche position and breadth of ectomycorrhizal fungi: Reduced diversity under warming predicted by a nested community structure	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Global Change Biology	6. 最初と最後の頁 5724 ~ 5737
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1111/gcb.14446">https://doi.org/10.1111/gcb.14446</a>	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 安井 瞭・岡本 透・寺嶋芳江・奈良一秀	4. 巻 73
2. 論文標題 国絵図と古文書史料から読み解く江戸年間の宮古列島における松樹導入の歴史	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 九州森林研究	6. 最初と最後の頁 11-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yasui R, Helbert, Itoh M, Terashima Y, Nara K
2. 発表標題 Ectomycorrhizal fungal communities in Pinus luchuensis of Nansei Islands -Comparison between "Low"-Islands and "High"-Islands-
3. 学会等名 第8回EAFES (東アジア生態学会連合)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井 瞭・寺嶋芳江・伊藤光沙・ヘルベルト・奈良一秀
2. 発表標題 リュウキュウマツ林の菌根菌群集から探る琉球列島の海没履歴
3. 学会等名 日本第四紀学会2018年大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井 瞭・Helbert・寺嶋芳江・奈良一秀
2. 発表標題 琉球列島・低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
3. 学会等名 第130回日本森林学会大会学術講演集
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Yasui, Helbert, Misa Itoh, Yoshie Terashima, Kazuhide Nara
2. 発表標題 Ectomycorrhizal fungal communities in Pinus luchuensis of Nansei Islands.
3. 学会等名 アジア国際生態学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮本裕美子・寺嶋芳江・成松真樹・奈良一秀
2. 発表標題 亜熱帯から亜寒帯にかけての気温傾度にそった外生菌根菌分布と種多様性傾向
3. 学会等名 菌根研究会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 伊藤光沙, 寺嶋芳江, 奈良一秀
2. 発表標題 琉球諸島におけるリュウキュウマツ林の外生菌根菌群集
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 安井 瞭・岡本 透・寺嶋芳江・奈良一秀
2. 発表標題 国絵図と古文書史料から読み解く江戸年間の宮古列島における松樹導入の歴史
3. 学会等名 九州森林学会
4. 発表年 2020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
研究分担者	奈良 一秀  (Nara Kazuhide)  (60270899)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授    (12601)	