# 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号: 34310

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2015~2017

課題番号: 15K07480

研究課題名(和文)リグニン分解菌の多様性と機能に注目した本邦亜熱帯林の土壌分解系に関する研究

研究課題名(英文)Studies on the soil decomposition system of subtropical forest in Japan with reference to the diversity and functioning of ligninolytic fungi

#### 研究代表者

大園 享司 (OSONO, Takashi)

同志社大学・理工学部・教授

研究者番号:90335307

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文):南西諸島の亜熱帯から本州の暖温帯に至る常緑広葉樹林において、落葉の漂白に関わる菌類の多様性、漂白部の化学組成およびその落葉分解にともなう変化、そして落葉漂白菌類の地理的分布を実証した。沖縄本島北部の亜熱帯林における継続観察により8属の菌類が漂白に関与しており、落葉中のリグニンの選択的除去が炭素と窒素のターンオーバーを促進していることを示した。石垣島から佐渡島に至る20地点では計62種の菌類が漂白に関与しており、落葉上の漂白面積率は年平均気温の低下にともなって減少した。以上により、リグニン分解に関与する菌類の多様性と機能の点から、本邦亜熱帯林の土壌分解系について新規性の高い成果が得られた。

研究成果の概要(英文): Bleaching of leaf litter caused by the selective removal of lignin by fungi was demonstrated in evergreen broad-leaved forests in subtropical regions of Japan. The diversity of fungi associated with the bleaching, chemical composition of bleached leaves and its changes during decomposition, and geographic distribution of bleaching fungi were investigated. Fieldworks in northern Okinawa Island showed eight fungal genera that took part in the bleaching and enhanced the turnover of carbon and nitrogen in decomposing litter. A total of 62 fungal species were associated with the bleaching of Castanopsis leaves in 20 sites from Ishigaki to Sado Island, with the relative area of bleached portions on litter increased positively with the mean annual temperature of the sites. These results are novel and contribute significantly to the understanding of the soil system in subtropical forests from the ecological viewpoint of diversity and functioning of ligninolytic fungi.

研究分野: 生態学

キーワード: 森林 菌類 落葉分解 生物多様性 物質循環 亜熱帯林

### 1.研究開始当初の背景

- (1)森林の土壌分解系は、落葉や落枝といった生物遺体の分解を通じて、栄養塩の循環や土壌有機物の生成に深く関わっている。このため、森林生態系の物質循環や森林動態を理解する上で、物質生産や食物連鎖といった、地上部における生態系プロセスのみならず、地下部の土壌分解系の構造や機能に関する理解が不可欠である。この土壌における分解プロセスには、菌類や細菌といった微生物が大きく関与している。
- (2)土壌分解系では、リグニン(植物遺体の主成分である難分解性の構造性有機物)が、分解プロセスの制限要因であることが明らかにされ、リグニン分解に関わる微生物に対する関心が高まっている。特に亜熱帯林・熱帯林では、リグニン分解菌の活性が高く、これが速やかな落葉の分解を引き起こしていることが、近年になって示された。リグニン分解に関わる菌類の多様性と機能に注目し、熱帯林土壌の機能を生態学的に評価することで新知見が得られる可能性が高い。
- (3)落葉上のリグニン分解菌の定着部位が 白色化する現象に注目し、野外での落葉の分 解にともなう、漂白部とリグニン分解菌の動態が、温帯林と熱帯林で明らかにされてきれてした。 温帯林と熱帯林の中間 位置する亜熱帯林では、どのようなリグニン分解菌により、落葉の漂白がどれくらいの損度でみられるのかについては、情報が限らている。また、亜熱帯林では温帯林に比べて、リグニン分解が活発であると考えられるが、亜熱帯林から温帯林に至る気候傾度で、リグニン分解菌の多様性や活性がどのようにで、カケには研究されていない。
- (4)本研究では、沖縄本島北部に位置する 亜熱帯性の常緑広葉樹林を主な調査対象と して、落葉の漂白を引き起こすリグニン分解 菌の多様性と、落葉分解プロセスに果たす役 割を実証した。さらに、南西諸島の亜熱帯林 から、本州の照葉樹林に至る気候傾度におい て、落葉の漂白の発生量と、落葉の漂白に関 与する菌類の多様性が、どのように変化する のかを明らかにした。

#### 2.研究の目的

リグニン分解菌の多様性と機能に注目し、本邦亜熱帯林における落葉分解のプロセスを明らかにするとともに、亜熱帯林から温帯林に至る気候傾度に沿ったリグニン分解活性の変化を実証的に評価することを目的とした。

### 3.研究の方法

(1)沖縄本島北部、琉球大学農学部与那フィールドの亜熱帯常緑広葉樹林に調査区(50

- ×10m)を設定した。漂白が出現している落葉の樹種と、漂白落葉の出現頻度、漂白部の面積割合を記録し、菌類の子実体および落葉組織から菌類を分離した。分離菌株はリボゾーム DNA の ITS 領域の塩基配列を決定し、分類群を特定した。
- (2)調査区において、リターバッグ法により落葉の分解実験を実施し、分解にともなう 漂白部の面積割合、重量、有機物組成の変化 を調べた。
- (3)沖縄本島北部の調査地を含む南西諸島 (西表島〜奄美大島)の亜熱帯林から、九州・四国・中国・近畿・伊豆地域・関東および佐渡の照葉樹林に至る 20 地点において、シイ類の落葉を採取し、漂白面積率と漂白部からの菌類の分離を行った。分離菌株はリボゾーム DNAの ITS 領域の塩基配列を決定し、分類群を特定した。

### 4. 研究成果

(1)沖縄本島北部の亜熱帯常緑広葉樹林に おいてリグニン分解にともなって発生する 落葉の漂白についての野外調査を実施した。 その結果、39種の植物において落葉の漂白が 認められた。このうち 20 種の落葉で比較すると、リグニン濃度の高い落葉や、菌類にと って分解しにくい落葉ほど、漂白面積率が高 い傾向が認められた。漂白部では、同じ落葉 の漂白を受けていない部位(非漂白部)に比 べて、葉面積あたり葉重量とリグニン濃度が 低く、セルロース、可溶性有機態窒素、アン モニア態窒素の各濃度が高かった。落葉の漂 白部では8属(子嚢菌類3属、担子菌類5属) の菌類の子実体が観察された。18種の植物に ついて漂白部の葉組織内から表面殺菌法に より漂白菌を分離したところ、116 菌株が得 られた。それら菌株の分類群を rDNA ITS 領 域の塩基配列に基づいて検討したところ、 76%が子嚢菌類(主にクロサイワイタケ科)、 24%が担子菌類(主にホウライタケ科)であ った。亜熱帯林では多様な菌類が難分解性の 落葉からリグニンを除去しており、それにと もなって炭素と窒素のターンオーバーが促 進されていることが明らかになった。

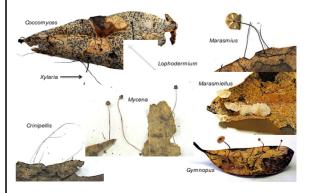


図 1.沖縄本島北部の亜熱帯常緑広葉樹林で 観察された8属の落葉漂白菌類

- (2) スダジイ、イジュ、イスノキ、タブノ キ、ヤブツバキ、カクレミノの6樹種につい て、分解にともなう漂白部の消長をリターバ ッグ法により追跡調査した。その結果、落葉 の漂白部は分解開始から9ヶ月目にかけて増 加傾向にあり、漂白部の面積割合は平均で、 スダジイで落葉面積の41%に、タブノキでは 35%に、それぞれ達した。その後、漂白面積 率は減少傾向に転じることが明らかとなっ た。漂白部では、漂白を受けていない非漂白 部に比べて、葉面積あたり葉重量とリグニン 濃度(重量%)が低く、セルロースと全窒素 の各濃度(重量%)が高かった。葉面積あた り窒素量も漂白部で低かったことから、リグ ニン分解菌の定着にともなう落葉の漂白に より窒素の無機化が促進されていることと、 リグニン分解菌の定着が、個葉レベルでの落 葉分解の異質性を生み出していることが示 された。
- (3) 石垣島から佐渡島に至る 20 地点でシイ 類の落葉を採取し菌類を分離した結果をま とめた。落葉上の漂白面積率は年平均気温の 低下にともなって減少した。表面殺菌法によ り、計800葉片から、落葉の漂白を引き起こ す子囊菌類 195 菌株、担子菌類 83 菌株の計 278 菌株を分離した。これらの菌株の分類群 を rDNA ITS 領域の塩基配列に基づいて検討 したところ、子囊菌類 33 種、担子菌類 29 種 の計 62 種に分類された。地点あたりでは 3 ~35 菌株が得られ、2~14 種が記載された。 もっとも分離菌株数が多かった種は Nemania diffusaで、19地点から86菌株が得られた。 以上により、地理的なスケールで漂白に関わ る菌類群集の組成と活性が変化しているこ とを実証した。

# 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15件)

- 1) Mori A.S., <u>Osono T.</u>, Cornelissen H., Craine J. & Uchida M. (2017) Biodiversity-ecosystem function relationships change through primary succession. *Oikos* 126: 1637-1649. 査 読あり
- 2) <u>Osono T.</u> (2017) Leaf litter decomposition of 12 tree species in a subtropical forest in Japan. *Ecological Research* 32: 413-422. 査読あり
- 3) Hishinuma T., Azuma J.I., Osono T. &

- Takeda H. (2017) Litter quality control of decomposition of leaves, twigs, and sapwood by the white-rot fungus *Trametes versicolor*. *European Journal of Soil Biology* 80: 1-8. 査読あり
- 4) Fujii S., Mori A.S., Koide D., Makoto K., Matsuoka S., <u>Osono T.</u> & Isbell F. (2017) Disentangling relationships between plant diversity and decomposition processes under forest restoration. *Journal of Applied Ecology* 54: 80-90. 査読あり
- 5) Matsukura K., Hirose D., Kagami M., Osono T. & Yamaoka Y. (2017) Geographical distribution of rhytismataceaous fungi on *Camellia japonica* leaf litter in Japan. *Fungal Ecology* 26: 37-44. 査読あり
- 6) Matsuoka S., Kawaguchi E. & <u>Osono T.</u>
  (2016) Temporal distance decay of similarity of ectomycorrhizal fungal community composition in a subtropical evergreen forest in Japan. *FEMS Microbiology Ecology* 92: fiw061. 音読あり
- 7) Matsuoka S., Mori A.S., Kawaguchi E., Hobara S. & Osono T. (2016)Disentangling the relative importance of host tree community, abiotic environment, and spatial factors on ectomycorrhizal fungal assemblages along an gradient. FEMS Microbiology Ecology 92: fiw044. 査読あり
- 8) Mori A.S., Isbell F., Fujii S., Makoto K., Matsuoka S. & <u>Osono T.</u> (2016) Low multifunctional redundancy of soil fungal diversity at multiple scales. *Ecology Letters* 19: 249-259. 査読あ

- 9) Hagiwara Y., Matsuoka S., Hobara S., Mori A.S., Hirose D. & <u>Osono T.</u> (2015) Bleaching of leaf litter and associated fungi in subboreal and subalpine forests. *Canadian Journal of Microbiology* 61: 735-743. 査読あり
- 10) Katsumata S., Hobara S., Osono T. & Takeda H. (2015) Mass, nitrogen content, and decomposition of woody debris in forest stands affected by excreta deposited in nesting colonies of Great Cormorant. Ecological Research 30: 555-561. 査読あり
- 11) Hishinuma T., Osono T., Fukasawa Y., Azuma J.I. & Takeda H. (2015) Application of <sup>13</sup>C NMR spectroscopy to characterize organic chemical components of decomposing coarse woody debris from different climatic regions. *Annals of Forest Research* 58: 3-13. 査読あり
- 12) Osono T. (2015) Decomposing ability of diverse litter-decomposer macrofungi in subtropical, temperate, and subalpine forests. *Journal of Forest Research* 20: 272-280. 査読あ
- 13) <u>Osono T.</u> (2015) Effects of litter type, origin of isolate, and temperature on decomposition of leaf litter by macrofungi. *Journal of Forest Research* 20: 77-84. 査読あり
- 14) Osono T. (2015) Diversity, resource utilization, and phenology of fruiting bodies of litter-decomposing macrofungi in subtropical, temperate, and subalpine forests. Journal of Forest

Research 20: 60-68. 査読あり

15) <u>Osono T.</u> (2015) Hyphal length in the forest floor and soil of subtropical, temperate, and subalpine forests.

Journal of Forest Research 20: 69-76.
査読あり

# [学会発表](計19件)

- 1) 大園享司・広瀬大 熱帯・亜熱帯樹木 の内生菌は落葉の漂白に関わるのか: 熱帯樹木葉における内生菌の遷移とリ グニン分解.第 129 回大会日本森林学 会大会「樹木病害研究会」高知大学 高 知 2018 年 3 月
- 2) 大園享司・菱沼卓也・東順一・武田博清 Litter quality control of decomposition of leaves, twigs, and sapwood by the white-rot fungus *Trametes versicolor*.第129回大会日本森林学会大会 高知大学 高知 2018年3月
- 3) 大園享司 環境変化と菌類群集:熱帯 から極域まで.第65回日本生態学会大会 生態学会大島賞受賞講演 札幌コンベンションセンター 札幌 2018年3月
- 4) 辰巳晋一・松岡俊将・藤井沙織・小林 真・<u>大園享司</u>・Isbell Forest・森章 Reassembly of soil fungal communities under plant diversity restoration.第65回日本生態学会大 会 札幌コンベンションセンター 札 幌 2018年3月
- 5) Osono T., Sakoh S., Ogisu Y., Matsuoka S. Diversity of fungi along primary successional and elevational gradients near Mount Robson, British Columbia. Fifth International Symposium on the Arctic Research (ISAR-5). January 2018, Hitotsubashi Hall, Tokyo, Japan

- 6) Osono T., Hobara S., Hishinuma T., Azuma J.I. Selective lignin decomposition and nitrogen mineralization in forest litter colonized by *Clitocybe* sp. 環境微生物系学会合同大会 2017 東北大学 仙台 2017年8月
- 7) 松岡俊将・岩崎貴也・川口恵里・土居 秀幸・<u>大園享司</u> 国内シイ林における 外生菌根菌群集の地理構造とその形成 要因 . 2017 年度第 1 回生態学会近畿支 部例会 理化学研究所 神戸 2017 年 6 月
- 8) Osono T., Hobara S. Effects of application of composted aquatic macrophytes from Lake Biwa on chemical properties in soil.

  JpGU-AGU Joint Meeting 2017. May 2017, Makuhari Messe, Chiba, Japan.
- 9) Nagane M., Osaka K., Ae N., Osono T.,
  Hobara S. Size distribution of soil
  particles containing phosphorus in
  forest and agricultural soils in a
  watershed draining to Lake Biwa.
  JpGU-AGU Joint Meeting 2017. May 2017,
  Makuhari Messe, Chiba, Japan.
- 10) 大園享司 落葉分解菌類の多様性と分解機能に関する生態学的研究.第 128 回日本森林学会大会 森林学会賞受賞講演 鹿児島大学 鹿児島 2017年3月
- 11) 大園享司 熱帯アジア・オーストラリアに見出される森林樹木の漂白落葉とそれに関与する菌類.第 128 回日本森林学会大会 鹿児島大学 鹿児島 2017年3月
- 12) 大園享司・保原達 水草堆肥の施用が 土壌の化学性に及ぼす影響.日本生態 学会第 64 回大会 早稲田大学 東京 2017年3月

- 13) 笠原暢・松岡俊将・藤井佐織・辰巳晋 ー・大園享司・森章 落葉分解を担う 菌類群集の構成要因を評価する.日本 生態学会第64回大会 早稲田大学 東 京 2017年3月
- 14) 松岡俊将・森章・保原達・大園享司 標 高傾度に伴う 2 土壌層位中の土壌菌類 群集の空間変動 . 日本菌学会第 60 回記 念大会 京都大学 京都 2016 年 9 月
- 15) 大園享司 亜熱帯林での落葉分解にと もなう有機物と窒素の動態.第 127 回 日本森林学会大会 日本大学 藤沢 2016年3月
- 16) 大園享司・保原達・平舘俊太郎・広瀬 大 亜熱帯林における落葉の漂白と菌 類.日本生態学会第63回大会 仙台市 国際センター 宮城 2016年3月
- 17) 松岡俊将・川口恵里・大園享司 本邦 シイ林における外生菌根菌群集構造の 地理的パターン . 日本生態学会第 63 回 大会 仙台市国際センター 宮城 2016 年 3 月
- 18) Osono T., Matsuoka S., Hiradate S., Hobara S., Hirose D. Fungi associated with the bleaching of leaf litter in a subtropical forest. Asian Mycological Congress 2015. October 2015, Goa University, Goa, India.
- 19) 松岡俊将・森章・川口恵里・保原達・ 大園享司 宿主群集・環境条件・空間 距離が標高傾度に伴う外生菌根菌群集 組成の変化に与える影響.日本菌学会 第59回大会 那覇市ぶんかテンブス館 那覇 2015 年 5 月

### [図書](計3件)

- 1) <u>大園享司</u> 基礎から学べる菌類生態学. 共立出版、2018、272 pp.
- 2) <u>大園享司</u> 生き物はどのように土にか えるのか 動植物の死骸をめぐる分解 の生物学.ベレ出版、2018、208 pp.

- 3) 大園享司 カビが映し出す北極と南極の極限環境.生物学者、地球を行く~まだ知らない生きものを調べに、深海から宇宙まで(小林真・工藤岳編)文一総合出版、2018、pp. 32-38.
- 4) 大園享司 枯れ木と菌類のエコロジーとコスモロジー・キノコとカビの生態学 枯れ木の中は戦国時代 (深澤遊著、大園享司コーディネーター) 共立出版、2017、pp. 147-153.
- 5) <u>大園享司</u> 山岳生態学のすすめ カナ ディアンロッキー.京都大学学術出版 会、2015、336 pp.

### [産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

受賞

平成 29 年 3 月 26 日 日本森林学会賞 平成 30 年 3 月 17 日 日本生態学会大島賞

#### 招待講演

- 1) 大園享司 病原菌は森林の多様性にどう影響するのだろうか? 樹木医学会第 20 回大会特別講演会「樹木の生活を支えるミクロコスモス」招待講演 東京農業大学 東京 2015年10月
- 2) 大園享司 菌類(かび・きのこ)は落ち葉をどのように食べ、土を作っているのか? 藤原ナチュラルヒストリー振興財団第8回シンポジウム「土と生き物の自然史」招待講演 国立科学博物館 東京 2016年11月
- 3) 大園享司 カビが映し出す北極と南極の極限環境 . 第65回日本生態学会大会公開講演会「極限に棲む生物の生き様- 身近な生態系の成り立ちを知るヒント」招待講演 札幌コンベンションセンター 札幌 2018年3月

商業誌・紀要(査読なし)・解説記事・新聞

### 掲載等

- Bhatta B.K., Osono T. & Takeda H.
   (2017) Carbohydrate control of nitrogen dynamics in decomposing leaf litter of temperate tree species.

   The Harris Science Review of Doshisha University 58: 118-125.
- 2) 長根美和子・尾坂兼一・阿江教治・<u>大園</u> <u>享司</u>・保原達(2017)琵琶湖流入河川 流域における森林および農地土壌中の リン含有粒子サイズの違い.酪農学園 大学紀要 41: 147-152.
- 3) Osono T. (2016) Bleached leaf litter of forest trees and associated fruiting bodies of fungi in tropical Asia and Australia. *The Harris Science Review of Doshisha University* 57: 204-212.
- 4) <u>大園享司(2016)</u>病原菌は森林の多様性 にどう影響するのだろうか? 樹木医 学研究 20: 7-8.
- 5) <u>大園享司(2016)</u>真菌感ときのこミュニケーション.京都大学新聞1月19日号 複眼時評.
- 6) 工藤栄・田邊優貴子・内田雅己・<u>大園享</u> 司・伊村智(2015)ラングホブデ雪鳥 沢・スカルブスネスきざはし浜の生物 活動域での気象要素の特徴について. 南極資料 59: 163-178.
- 7) 大園享司・松岡俊将・藤永承平・保原達・ 奥田昇(2015)水草堆肥を施用して土 壌のリンを効率的に利用する.地球環 境 20: 11-16.

# ホームページ等

http://www1.doshisha.ac.jp/~tosono/

6.研究組織

(1)研究代表者

大園 享司 (OSONO, Takashi) 同志社大学・理工学部・教授 研究者番号:90335307