

平成 22 年 5 月 21 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19380083

研究課題名（和文）森林形成過程における樹木と土壤微生物の相互作用解析

研究課題名（英文）Interaction between trees and soil microbes during early stages of forest formation

研究代表者

奈良 一秀（NARA KAZUHIDE）

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・助教

研究者番号：60270899

研究成果の概要（和文）：土壤養分を宿主植物に供給する共生微生物は、荒廃地に樹木が定着し森林が形成されるプロセスにおいて重要と考えられるものの、その相互作用はよく分かっていない。本研究では、分子生物学的な手法により菌根菌の繁殖様式を解析し、先駆的な性質を持つキツネタケ属は孢子繁殖への異存が高いことなどを明らかにした。また、菌根に附随するバクテリア群集についても解析し、その組成が植生遷移の進展とともに変化することなどを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Symbiotic soil microbes may play critical roles in host tree establishment, but we know little about the interaction between the soil microbes and host plants during early stages of forest formation. In this study, we used molecular analyses to characterize reproductive strategies of pioneer ectomycorrhizal fungi and bacteria communities associated with ectomycorrhizal root tips, with special reference to vegetation succession.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2008 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
総計	7,500,000	2,250,000	9,750,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：林学・森林工学

キーワード：外生菌根菌、根圏バクテリア、荒廃地、遷移

1. 研究開始当初の背景

（1）外生菌根菌（以下、菌根菌）は樹木の細根に共生する菌類で、土壤中のリンや窒素を効率的に吸収し、宿主樹木に供給する働きを持つ。宿主樹木の成長や定着にとってこうした菌根菌の機能は必要不可欠なものであ

ることが知られている。しかし、その菌根菌自体がどのようにして繁殖しているのかについては依然として不明のままである。

（2）菌根には様々なバクテリアが共生し、その一部は菌根の形成を促進していること

が知られている。しかし、そうした菌根圏のバクテリアが宿主の成長や植生遷移とともにどのように変化するかについては分かっていない。

2. 研究の目的

(1) 植生遷移の初期過程において優占している菌種に着目し、その個体群動態を明らかにすることで、繁殖様式を推定する。

(2) 菌根圏バクテリアの群集構造が宿主の成長や植生遷移などによってどのように変化するかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 富士山火山荒原において優占する菌根菌であるキツネタケ(*Laccaria cf. laccata*)とウラムラサキ(*Laccaria cf. amethystina*)の子実体(キノコ)や菌根を、位置情報とともに複数年にわたってサンプリングした。一般に、地中の同一コロニーから複数の子実体が発生し、それらを隣接するコロニーの子実体と観察によって区別することはできない。そこで、DNA マーカーによって同じ遺伝子を持つ「個体」の識別を行い、個体数や個体サイズ、個体の消長を追跡し、その繁殖様式を解析した。

(2) 富士山火山荒原とその周辺に生育するミヤマナギとアカマツの菌根からバクテリアを分離し、その DNA を解析することによって種を同定した。また、培養過程でのバイアスを避けるため、菌根から抽出した DNA から、新たに設計したプライマーを用いて、バクテリア由来の DNA のみを増幅し、その塩基配列を決定することで種を同定した。得られた菌根圏バクテリアの種組成を、樹木のサイズや植生遷移などのパラメーターなどとともに多変量解析を行った。

4. 研究成果

(1) 子実体の DNA 解析によって、キツネタケとウラムラサキの個体サイズ(同一遺伝子型を持った子実体間の最大距離)は全て 1.5m 以下であり、より小さいサイズの個体が優占していた(図 1)。また、両菌種とも約半数の個体は毎年入れ替わっていた。菌糸によって広がる栄養繁殖への異存が高ければ、同一の個体が複数年にわたって観察され、サイズの大きな個体も存在する傾向を示すと考えられる。しかし、この 2 菌種で見られた個体群動態の結果は、孢子によって新たな個体を次々に生み出し、古い個体はどんどん消滅していくという、孢子への依存度が高い繁殖様式であると特徴づけることができる。

(2) 菌根菌の子実体は、菌根から栄養を得

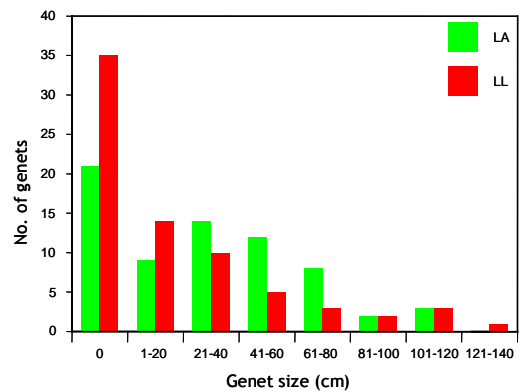


図 1 キツネタケ(LL)とウラムラサキ(LA)の個体サイズ(同じ遺伝子型を持つ子実体間の最大距離)

ている地中の菌糸体が母体となって発生する。しかし、地中の菌糸体個体の全てが子実体を発生するわけではないため、子実体の解析だけではその場所に生息している個体群のごく一部を追跡しているに過ぎない。そこで、子実体の発生時期とその翌年の春に、子実体発生場所を中心とする方形区内の菌根をサンプリングし、その遺伝子型をもとに個体群動態を調べた。その結果、子実体発生時期には、子実体と同じ遺伝子型を持った菌根が地下部でも優占していること(図 2 左)、子実体発生個体のおよそ半数が翌春には消滅していることなどが明らかにされた。また、翌春には、数多くの異なる遺伝子型を持った個体が検出され、その多くは前年発生した子実体の子孫の可能性のあるものであった(図 2 右)。こうした結果から、秋に子実体から散布された孢子が翌春までに発芽・定着し、新たな個体が地下部で生み出されるという繁殖様式が推定された。

1	X	X	X	2
1	1	1	1	2
1	1	1	2	X
1	1	1	1	2
1	1	1	1	1

5	10	13	15	19
4	9	1	1	18
3	8	1	1	1
2	7	12	1	17
2	6	11	14	16

図 2 地下部菌根におけるウラムラサキ個体の分布例(左図が子実体発生時、右図が翌春。発生した子実体を中央にした一辺 1m の方形区をさらに 2.5 分割し、各分割区で検出されたウラムラサキ個体の識別番号を示す。赤数字はキツネタケ。どちらの菌根も含まれなかったサンプルは X で示す。)

子実体発生時にはピンク色で示した子実体と同じ遺伝子型を持つ菌根が地下部で優占しているのが分かる。一方、翌春には前年秋に子実体を発生させた個体の菌根は検出されず、その子孫の可能性のある個体(*印)が多数観察された。

(3) 富士山の溶岩跡地に生育しているアカマツの菌根からバクテリアを分離し DNA 解析を行った結果、根粒菌として知られる *Rhizobium* 類が高頻度に検出された。その系統解析を行った結果、菌根圏に生息している *Rhizobium* は多系統であり、これまでに知られている *Rhizobium* とは系統的に大きくはなれたグループも含まれることが明らかとなった (図 3)。

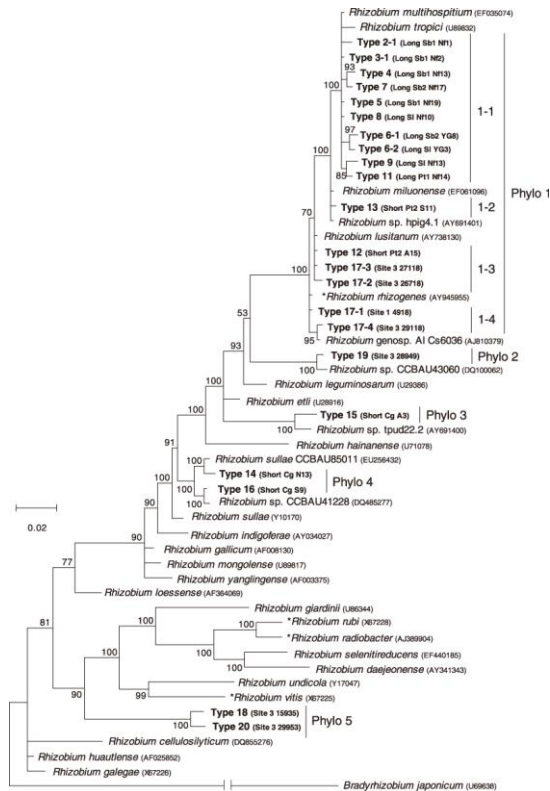


図 3 アカマツの菌根から分離された *Rhizobium* 属バクテリアと既知種との系統関係 16SrDNA シーケンスデータに基づくベイズ系統解析。全ての *Rhizobium* 既知種を含む。アカマツの菌根から分離された *Rhizobium* は大きく 5 つの系統群に分かれた。

(4) アカマツとミヤマヤナギの菌根圏から分離したバクテリア群集を解析したところ、 α 、 β プロテオバクテリアが多数検出された。こうした菌根圏のバクテリア群集を非根圏土壌や裸地土壌の土壌バクテリア群集と対応分析した結果、菌根圏には土壌とは大きく異なるバクテリア群集が生息していることが明らかとなった (図 4)。また樹種や植生遷移段階によっても菌根圏バクテリア群集は大きく異なることが明らかとなった。培養を経由しない直接 DNA を解析する手法でも、検出されるバクテリアはほぼ同じであった。

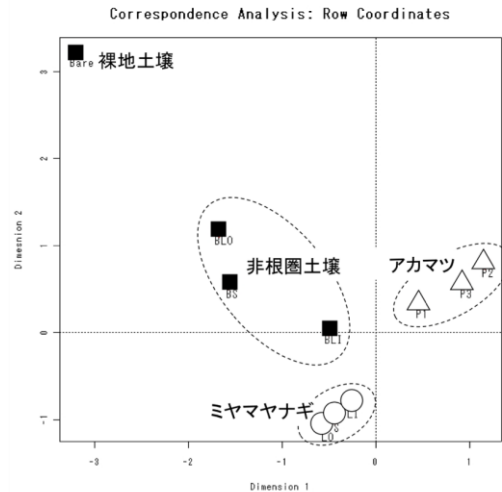


図 4 菌根圏バクテリアと土壌バクテリアの対応分析

(5) 重要な働きを持つ外生菌根菌の繁殖様式についてはこれまで詳細な研究が無く、不明な点が多かった。本研究により、遷移初期に優占する外生菌根菌 2 種が孢子に依存した繁殖戦略を持っていることが明らかにされた。これは、荒地により早く侵入する上で不可欠な繁殖特性なのかもしれない。さらに多くの菌根菌の繁殖戦略を探ることにより、より普遍的な知見を得ることが重要になるであろう。

(6) 菌根圏バクテリアはこれまでに記載されたバクテリアとは異なる種が数多く含まれる可能性が明らかとなった。こうした種の記載や系統解析は、植物-菌根菌-バクテリアの三者共生系の進化を理解する上で不可欠であろう。また、こうした菌根圏のバクテリアがどのような機能を持っているのかについても研究が必要となるであろう。

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 9 件)

- ① Tedersoo, L., Nara, K. (2010) General latitudinal gradient of biodiversity is reversed in ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist* 185: 351-354.
- ② Tanaka, M., Nara, K. (2009) Phylogenetic diversity of non-nodulating *Rhizobium* associated with pine ectomycorrhizae. *FEMS Microbiology Ecology* 69: 329-343.
- ③ Ishida, T.A., Nara, K., Ma, S., Takano, T., Liu, S. (2009) Ectomycorrhizal fungal community in alkaline-saline soil in northeastern China. *Mycorrhiza* 19:

- 329-335.
- ④ Nara, K. (2009) Spores of ectomycorrhizal fungi: ecological strategies for germination and dormancy. *New Phytologist* **181**: 245-248.
 - ⑤ Ishida, T.A., Nara, K., Tanaka, M., Kinoshita, A., Hogetsu, T. (2008) Germination and infectivity of ectomycorrhizal fungal spores in relation to ecological traits during primary succession. *New Phytologist* **180**: 491-500.
 - ⑥ 宝月岱造・練春蘭・成松真樹・奈良一秀 (2008) 地面の下のマツタケ生態学. *森林科学* **53**: 33-34.
 - ⑦ Ishida, T. A., Nara, K., Hogetsu, T. (2007) Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forests. *New Phytologist* **174**: 430-440.
 - ⑧ He, X.H. Nara, K. (2007) Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition? *Trends in Plant Science* **12**: 331-333.
 - ⑨ 奈良一秀 (2007) 生態系を見る新たな視点: 菌根菌. *理科教室* **50**: 30-37.

[学会発表] (計 16 件)

- ① 田中恵・奈良一秀 (2010) 菌根圏バクテリアの群集構造: 非培養法と培養法の比較. 日本森林学会 第 121 回大会 (つくば大学, 4.3)
- ② 村田政穂・木下晃彦・田中元気・奈良一秀 (2010) トガサワラ林の外生菌根菌群集. 日本森林学会 第 121 回大会 (つくば大学, 4.3)
- ③ 蘇玉・奈良一秀・陳亜華・練春蘭 (2010) 外生菌根菌の菌糸成長に対する重金属の影響 第 121 回大会 (つくば大学, 4.3)
- ④ 黄建, 宗昆, 彭克儉, 薛生国, 陳亜華, 奈良一秀, 練春蘭 (2010) 中国湖南省の重金属鉱山荒廃地における菌根菌群集. 日本森林学会 第 121 回大会 (つくば大学, 4.3)
- ⑤ Chen, Y., Nara, K., Lian, C.L. (2010) Effect of ectomycorrhizal fungi on copper tolerance of pine seedlings. 日本森林学会 第 121 回大会 (つくば大学, 4.3)
- ⑥ Zong, K., Huang, J., Chen, Y., Nara, K., Shen, Z., Lian, C.L. (2010) Effect of ectomycorrhizal colonization on seedling survivals of *Pinus densiflora* and *Quercus* spp. in copper mine tailings. 日本森林学会 第 121 回大会 (つくば大学, 4.3)
- ⑦ Nara, K. (2009) Biogeography of ectomycorrhizal fungi found in a dipterocarp forest in Indonesia. *Asian*

Mycological Congress, Taiwan, invited speech. 2009.11.16

- ⑧ 奈良一秀 (2009) 土壌中に広がる菌根菌ネットワークの多様性と機能. 日本植物学会 第 73 回大会 (山形大学, 9.20) 招待講演
- ⑨ 奈良一秀 (2009) 熱帯フタバガキ林における菌根菌の多様性と火災の影響. 日本森林学会 第 120 回大会 (京都大学) 招待講演
- ⑩ Nara, K. (2008) Host effects on ectomycorrhizal fungal communities. 21st *New Phytologist Symposium* "The ecology of ectomycorrhizal fungi", Montpellier, France, invited speech.
- ⑪ 奈良一秀・木下晃彦・石田孝英・田中恵・Suciatmih・Simbolon Herwint (2008) 熱帯フタバガキ林における外生菌根菌の多様性. 日本森林学会第 119 回大会 (東京農工大学)
- ⑫ 丸山永・呉炳云・奈良一秀・松下範久・宝月岱造 (2008) 富士山火山荒原における外生菌根菌ハマニセショウロのジェネット変動. 日本森林学会第 119 回大会 (東京農工大学)
- ⑬ 奈良一秀 (2007) 菌根菌が木を育て森を作る! 日本森林学会第 118 回大会 (九州大学) 招待講演
- ⑭ 石田孝英・奈良一秀・寶月岱造 (2007) 一次遷移過程で優占する外生菌根菌の孢子発芽率と菌根形成能. 日本森林学会第 118 回大会 (九州大学)
- ⑮ 田中恵・奈良一秀 (2007) 土壌と菌根菌の違いが根圏バクテリア群集に及ぼす影響. 日本森林学会第 118 回大会 (九州大学)
- ⑯ 田中恵・奈良一秀 (2008) 野外における菌根圏バクテリアの群集構造: 樹種および菌種の影響. 日本森林学会第 119 回大会 (東京農工大学)

[図書] (計 3 件)

- ① He, X.H., Critchley, C., Nara, K., Southworth, D., Bledsoe, C.S. (2009) N-15 enrichment methods to quantify two-way nitrogen transfer between plants linked by mycorrhizal networks. In: *Symbiotic Fungi: Principles and Practice* (2nd edition), Ajit Varma and Amit Kharkwal, eds. Springer, Germany, pp. 285-291.
- ② Nara, K. (2008) Community development patterns and ecological functions of ectomycorrhizal fungi: implication from primary succession. In *Mycorrhiza* (3rd edition), Ajit Varma ed. Springer, Germany, pp. 581-599.
- ③ 奈良一秀 (2008) 菌根菌による植生遷移

促進機構. In: 攪乱と遷移の自然史.
重定・露崎 編. 北海道大学出版会. pp.
95-111.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

[その他]

- ① 2008年2月18日 NHK 高校講座 生物 資料提供・番組作成協力
- ② 国立科学博物館特別展「菌類の不思議展」研究成果の展示 (国立科学博物館 H20.10.11～H21.1.12)
- ③ 科学技術振興機構『科学と人間生活 たのしく学べる! 実用実験動画集』のコンテンツ「植物と共生する菌根菌」資料提供・作成協力 (平成 20 年度事業、<http://rikanet2.jst.go.jp/contents/cp0170c/start.html>)
- ④ 2009年4月18日、19日 新聞各紙 (産経新聞/日本経済新聞/東京新聞/北海道新聞/河北新報/東奥日報/秋田魁新報/山形新聞 /岩手日報/福島民報/下野新聞/茨城新聞/神奈川新聞/山梨日日新聞/信濃毎日新聞/中日新聞/静岡新聞/岐阜新聞/北日本新聞/京都新聞/神戸新聞/山陽新聞/中国新聞/日本海新聞/山陰中央新報/四国新聞/愛媛新聞/徳島新聞/高知新聞/西日本新聞/大分合同新聞/宮崎日日新聞/長崎新聞/佐賀新聞/熊本日日新聞/共同通信/大阪日日新聞/Yahoo!ニュース/nifty ニュース/excite ニュース/goo ニュース/biglobe ニュース/ デイリースポーツなど) 研究成果紹介
- ⑤ 2009.4.21 フジテレビ「目覚ましテレビ」研究成果紹介・出演・資料提供
- ⑥ 2009.4.22 テレビ神奈川「ニュースハーバー」研究成果紹介・資料提供

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/symbio/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奈良 一秀 (NARA KAZUHIDE)

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・助教

研究者番号 : 60270899

(2) 研究分担者

練 春蘭 (LIAN CHUNLAN)

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・准教授

研究者番号 : 40376695

(3) 連携研究者

田中 恵 (TANAKA MEGUMI)

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・特任研究員

研究者番号 : 40401301