

平成 22 年 6 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19580176

研究課題名（和文） 琉球列島のマングローブの樹木内生菌相はどのように形成されるか

研究課題名（英文） The species composition of the endophytic fungi in the shoot of mangrove trees in the Ryukyu Islands

研究代表者

亀山 統一 (KAMEYAMA NORIKAZU)

国立大学法人琉球大学・農学部・助教

研究者番号：30264477

研究成果の概要（和文）：生きた樹木の体内に、外見の変化を起こさず寄生する微生物があり、内生菌という。琉球列島で、マングローブ内生菌の種類を調べ、陸上森林と比較した。茎葉では、1～数種の菌が多数派で、ほかに多くの菌種が内生していた。それらの一部は陸上森林との関係が強かった。多数派の菌は陸上森林と共通で、低率で分離される多様な菌種がマングローブを特徴づけている。

樹上の果実では、内部の種子などに多くの菌が内生菌していた。マングローブへの内生菌の供給路として、陸上森林からの感染と、散布体（発芽種子）による運搬が示された。

研究成果の概要（英文）：Endophytic fungi were isolated from mangrove trees in the Ryukyu Islands. The young shoot was dominated by a few species, common fungi in the neighboring terrestrial forests. There were many other species isolated from the shoot, which characterized the flora of mangrove endophytes. Various fungi were also isolated from both unexposed young seeds and exposed hypocotyl of the matured propagule on the mother tree. Terrestrial forest behind mangrove and propagules were shown to play an important role to supply endophytic fungi to mangrove trees.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：森林科学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：森林科学， 内生菌， マングローブ， ヒルギ科， 琉球列島

1. 研究開始当初の背景

申請者らは、琉球列島のマングローブの樹木病害研究を進め、メヒルギ、ヤエヤマヒルギ、ヒルギダマシ、ヒルギモドキなどの樹種に、メヒルギ枝枯病をはじめとする、

Cryphonectria, *Phomopsis*, *Pestalotiopsis*, *Botryosphaeria* などの属に所属する菌類による病害を見いだした（亀山（2004）ほか）。一方、ヒルギ科樹種のシュートの内生菌相とその季節変化について検討を開始したところ、*Cryphonectria* sp. をのぞく上記の菌はいずれも、琉球列島のヒルギ科樹種の健全な枝葉から高頻度で分離され、樹木内生菌として生活していることが示唆された。また、内生菌としてこのほかにも *Colletotrichum*, *Phyllosticta*, *Seimatosporium* などの属に所属する多様な菌類が分離された（亀山：未発表）。マングローブ樹種の病害は国内外とも既往の報告は少なく、発展途上の分野である。

一方、マングローブの内生菌相については近年、研究がすすみつつあり、西表シイラ川でのオヒルギからの菌相の検討例などが報告されている（岡根（2001）日菌報ほか）。しかし、季節や地域、林内の位置、樹体の部位による菌類相の変異や、樹木内生菌が宿主樹体に及ぼす影響についての報告は殆どない。

既知のマングローブ内生菌に関しては、同定された菌はいずれも植物寄生菌としてよく知られる属に所属しており、*Cryphonectria* 属も米国における重要森林病害であるクリ胴枯病菌が所属することから、研究の蓄積は豊かである。そこで、自生のマングローブ林を有し、かつ野外条件下でマングローブ構成樹種について実験を遂行できる、琉球列島の地

理的条件を活かして、ヒルギ科のマングローブの樹木内生菌相について、全般的な検討を行うことが期待された。

2. 研究の目的

現存するマングローブの多くは、社会圧を強く受けて、森林劣化が進んでおり、その生物多様性は危機にさらされている。また、地球温暖化により今後予想される海面上昇により、マングローブ林は、かつてない短期間に大規模な移動を強いられる。このような生育環境の悪化にさらされているマングローブ生態系の保全や、特に発展途上国におけるマングローブ造林などの環境修復事業のためには、マングローブの健全性に影響を与える寄生菌類の検索と評価、その診断法を確立していく必要がある。本研究をつうじて、マングローブ林の健全性のみならず生物多様性に寄与する重要な要素でありながら、ほとんど未知である寄生微生物相について基本的情報を明らかにしたい。本研究ではとくに、マングローブの地上部組織における内生菌類の菌類相と、それらの由来・機能について、次の2点を中心に明らかにしようとした。

- (1) 琉球列島産の純マングローブ種のうち稀少なニッパヤシを除く6種すべてと、主要な準マングローブ種について、複数の島に調査地を設けて、枝葉に内生する菌類相を明らかにするとともに、その、樹種・部位・季節・地域による変異について明らかにする。特にヒルギ科3樹種について、十分な検討を行う。

(2) マングローブ植物はその散布体（果実、種子または種子が発芽したもの）が海上を長距離漂流して定着し、森林として成立していくものである。その立地環境は、洪水や地形変化の影響を受けやすい。したがって、マングローブ林は長期間存続しにくい特質をもつ。漂着した少数の散布体が新たな生育好適地に定着し、劇的に増殖して森林を形成することも少なくない。一方、マングローブ林の林床は潮汐に影響を受け冠水するため、落葉落枝がリター層を形成するなどして条件的寄生菌の感染源となることができない。このようなマングローブの立地環境に着目して、マングローブの内生菌がどこに感染源をもっているのか検討を進めたい。本研究では、マングローブの内生菌種の少なくとも一部は海岸林の内生菌相と一致するとの仮説を立て、複数の島の調査地で、マングローブ林と隣接する陸上森林の構成樹種の内生菌相との比較検討をおこなう。

3. 研究の方法

沖縄島、西表島のマングローブに試験地を設定し、マングローブ及びその後背に接する陸上森林の構成樹種を対象に、シュートからの内生菌の分離試験を行う。研究方法に必要な改善を加えつつ、調査・検討を継続し、野外調査に関しては一般に必要とされる3年間の継続データとして蓄積する。隣接する陸上森林の内生菌相については、岡根（2001）も本研究代表者も、マングローブ内生菌の一部と共通性があることを確かめている。本研究では、一致する菌種の範囲を明らかにするとともに、マングローブからの分離率の高い内生菌種の中で陸上森林で見られないものがある場合には、2年目以降は、その菌の分布の検討に絞って、マングローブの散布体や落葉落枝などからの菌分離を試みるなど、新たな

感染源の探索に重点を置くこととした。

- (1) それぞれの調査地で、健全な枝葉、種子（散布体）を年数回採集し、菌類の分離・属レベルの同定を行い、分離菌相の部位や季節による変化を明らかにする。
- (2) 樹体に加わる塩類ストレスの強度が地上高によって異なることに着目し、同一個体・林分内で異なる高さにある枝葉を採取し菌類相の比較を行う。試験地においては、マングローブ林に固定調査区をもうけて毎木調査を行い、林木の状態を記録する。
- (3) 分離試験によって得られた菌株を形態学的特徴により分類し、少なくとも属レベルまで同定して保存する。既知の種については、分布範囲の文献調査を行い、陸上森林の菌類相との関係を極力明らかにする。
- (4) 分離された主要な菌株をもちいて、内生菌種ごとの宿主樹種に対する感染性や病原性を実生苗への接種試験により明らかにする。本研究では、まず、優占して分離される内生菌群をもちいて、メヒルギ葉への接種試験の手法を確立する。

4. 研究成果

琉球列島のマングローブ内生菌相を明らかにするため、西表島と沖縄島のマングローブに調査地を設置し、ヒルギ科3樹種と後背の陸上森林の代表的な樹種について、健全な枝葉や散布体からの樹木内生菌（真菌類）の分離試験を試みた。その結果、次のような知見を得た。

- (1) 琉球列島のマングローブにおいては、*Phomopsis*, *Colletotrichum*, *Phyllosticta* の3属の菌が優占していることが研究代表

者らによる既往の研究により明らかにされつつあった。本研究において、沖縄島比屋根のマングローブ、西表島浦内川のマングローブとその後背林の樹木からそれぞれ供試木を選び、若いシュートから内生菌の分離を試みた。その結果、2つのマングローブと後背林の内生菌相には共通性があることが認められた。すなわち、*Colletotrichum* sp., *Phyllosticta* sp., *Phomopsis* sp. の1種以上がヒルギ科3樹種ではつねに優占的であった。後背林の樹種の多くからも、これらの菌は高率で分離された。すなわち、これらの菌は広範囲の宿主に寄生し、かつ優占的に内生しているグループと示唆される。同時に、マングローブ林と後背の陸上森林において、樹木内生菌が相互に感染源となっていることを示唆するものでもある。マングローブが環境負荷を受けやすい変化の大きな森林であることを考慮すれば、陸上森林がマングローブ内生菌の供給源となっているという事実が重要である。

(2) 優占的な3菌種に加えて、

Pestalotiopsis sp., *Dothiorella* sp., *Cladosporium* sp., *Aureobasidium* sp. など、優占的ではないが地域、樹種を超えてよく分離される菌群が認められた。また、*Seimatosporium* sp., *Mycosphaerella* sp., *Fusarium* sp., *Nodulisporium* sp. など、特定の樹種・地域からのみ比較的高率で分離される菌群もあった。さらに、低率で分離される多数の菌群があった。

今回偏在性の高かった菌群の一つである *Fusarium* sp. は、研究代表者らの調査では過去に種子島の1箇所のメヒルギ林でも高率に分離されている。このように、マングローブの内生菌となりうる菌種は多数あり、その中から、*Colletotrichum*

sp., *Phyllosticta* sp., *Phomopsis* sp. が優占しやすいものの、宿主・環境の条件に応じて局所ごとに特定の菌群が出現するものと推測された。

(3) 既知の病害と内生菌相の関係について明らかにするため、琉球列島において広く発生しているメヒルギ枝枯病の病原

Cryphonectria liukuensis (子のう菌) と内生菌相との関係に注意を払って検討した。その結果、本菌はヒルギ科3樹種から極めて低率で分離された。また、陸上森林の構成樹種からも類似の形態の菌株が同様に低率で分離された。従って、本菌がマングローブやその後背林において内生菌として存在していることはないものと推測された。また、本菌の発病・進展が直接に宿主の内生菌相と相互関係を有していることを示す知見は得られなかった。

(4) 樹冠の上部、中間、下部に位置する茎葉からそれぞれ内生菌を分離したところ、分離傾向に違いは見られなかった。樹冠下部は大潮の満潮時には冠水し、樹冠上部は日射や風雨の影響をより強く受けるが、実験時に見られた通常的气象条件下では、マングローブ環境における非生物条件の違いは、内生菌相に強い影響を及ぼすものでないことが示唆された。分離された菌種のうち、葉に偏在する (= 茎経由で葉組織に侵入しない可能性が高い) ことが知られている *Phyllosticta* sp. が、展葉を終えたばかりの若い葉や、大潮では水没する樹幹下部でも感染が認められたことが注目された。このことは、少なくとも一部の内生菌群は短期間に宿主に感染定着できることを意味する。また、同一手法での内生菌分離率は、浦内川のマングローブと陸上森林の樹種間

で変わらなかった。したがって、冠水、風波、日射、着塩などの菌類に不利と思われる環境条件を特徴とするマングローブにおいても、内生菌の感染・定着は陸上森林に比して困難とはいえないことが明らかにされた。

- (5) ヒルギ科では種子が樹上で発芽し、胚軸が果皮を破って長く伸長して、いわゆる「胎生種子」という形態で散布される。琉球列島産のヒルギ科3 樹種において散布体の内生菌分離試験を行ったところ、発芽種子・散布体のほぼすべての部位から内生菌が分離された。3 樹種とも、散布体等からの内生菌分離率は茎葉よりも著しく低く、萼に被覆された胚軸組織・スポンジ組織で分離率が高かった。また、散布体等での分離菌群数は、茎葉よりも少なかった。茎葉で高率に分離され、散布体等で分離されない菌群もあった。散布体のみから分離される菌はなかったが、担子菌類のコウボ様糸状菌やオヒルギにおけるenicilium sp. など散布体やその被覆組織から顕著に分離される菌種もあった。胚軸など散布体組織からの内生菌分離率は、散布体の成熟が進み、胚軸の外界への露出時間が長くなっても、それに相関して高まるものではなかった。散布体から相当多様な内生菌が分離されたことから、発達した胚軸をもつヒルギ科の散布体が、水上の分散・定着・稚樹の初期成長に適応的であるだけでなく、多様な寄生菌類の「乗り物」としても相当に機能していることが、示唆された。

以上の結果を考察するに、マングローブの茎葉においては、1~数種の優占する内生菌種に加えて、多数の菌種が内生している。その一部は陸上森林との関係が強い。低率で分離さ

れる多様な菌種の構成は、偶然に決まっている可能性もあるが、この低率で多様な内生菌群が、マングローブ内生菌相を特徴づけている。一方、樹上の果実のなかにある種子やそれが発芽した組織においても、内生菌は認められ、内生菌の感染経路が相当に多様で巧妙であるとともに、散布体が内生菌の乗り物となるという経路をも示した。このように、マングローブ内生菌の種多様性が明らかにされ、菌相を左右する要因として、陸上森林からの感染と、散布体による運搬が確かめられた。

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6 件)

①亀山統一・吉崎走 (2010) 西表島のメヒルギ散布体から分離された樹木内生菌. 樹木医学研究14, 印刷中, 査読有

②亀山統一・吉崎走(2010)西表島マングローブのヒルギ科3 樹種の散布体から分離された内生菌. 日本森林学会大会論文集121, 700. 査読無

③吉崎走・亀山統一 (2010) 琉球列島のマングローブの主要な樹木内生菌の接種試験. 日本森林学会大会論文集121, 700. 査読無

④亀山統一, 吉崎 走, 松本 類志, 源河 友美, 新垣 康平(2009) 琉球列島のマングローブにおける樹木内生菌 第2 報 ヒルギ科樹木のシュートにおける種構成の特徴. 日本森林学会大会学術講演集120, 833. 査読無

⑤亀山統一(2008) 琉球列島のマングローブにおける樹木病害 (第5 報) メヒルギ枝枯病への台風の影響. 日本森林学会大会学術講演集,

119, P2d13 (1p.) . 査読無

⑥亀山統一(2008) 樹木医学の対象となりつつあるマングローブ林. 樹木医学研究 12, 232-233. 査読無

[学会発表] (計5 件)

①亀山統一・吉崎走: 西表島マングローブのヒルギ科3 樹種の散布体から分離された内生菌. 第121 回日本森林学会大会, 2010 年4 月4 日, 筑波大学.

②吉崎走・亀山統一 (2010)琉球列島のマングローブの主要な樹木内生菌の接種試験. 第121 回日本森林学会大会, 2010 年4 月4 日, 筑波大学.

③亀山統一・吉崎走: 西表島のメヒルギ散布体から分離された樹木内生菌. 樹木医学会大会, 2009 年11 月15 日, 東京農業大学.

④亀山統一, 吉崎 走, 松本 類志, 源河 友美, 新垣 康平: 琉球列島のマングローブにおける樹木内生菌 第2 報 ヒルギ科樹木のシュートにおける種構成の特徴. 第120 回日本森林学会大会, 2009 年3 月26 日, 京都大学.

⑤亀山統一: 琉球列島のマングローブにおける樹木病害 (第5報) メヒルギ枝枯病への台風の影響. 第119回日本森林学会大会・2008 年3月28日・東京農工大学

[図書] (計0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0 件)

○取得状況 (計0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.agr.u-ryukyu.ac.jp/wp/kameyama>

6. 研究組織

(1)研究代表者

亀山 統一(KAMEYAMA NORIKAZU)

国立大学法人琉球大学・農学部・助教

研究者番号: 30264477

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし