

機関番号：82617

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20770072

研究課題名 (和文) 着生植物の進化に伴う共生菌の変化

研究課題名 (英文) Evolution of epiphytes and their mycorrhiza.

研究代表者 堤 千絵 (TSUTSUMI CHIE)

国立科学博物館 植物研究部

研究者番号：30455422

研究成果の概要 (和文)：

さまざまな環境に進出し多様化を遂げた植物の大部分が菌と共生し、植物の陸上への進化には共生菌が重要な役割を果たした可能性が指摘されている。本研究では、地上から樹上へと進化した着生植物に着目し、着生植物の進化に伴う共生菌の遺伝的分化、各菌が植物の生育に与える影響を調査した。ラン科クモキリソウ属の着生種フガクスズムシと地性種クモキリソウでは、菌根菌が遺伝的にわずかながら異なり、菌により植物の発芽率やプロトコーム分化率が異なることから、菌の分化が生育場所の分化に関与していると推定された。ツツジ科の一部の分類群でも分子系統解析や菌の比較を行った。

研究成果の概要 (英文)：

We hypothesize that epiphyte evolution is possible to be related with mycorrhizal fungi. To clarify the hypothesis, we performed (1) molecular phylogeny of plants and their fungi using epiphyte and its closely related terrestrial species and (2) the effect of mycorrhizal fungi to plant growth using *in vitro* symbiotic germination tests and *in situ* germination experiments in natural habitats. In epiphytic *Liparis fujisanensis* (Orchidaceae) and terrestrial *L. kumokiri*, their mycorrhizal fungi differ in their ITS sequences and in the responses of plant germination and growth. It suggests that a shift of mycorrhizal fungi can be one of key innovations that allowed the evolution of epiphytic *L. fujisanensis*. Other studies using some epiphytes were also performed.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：着生植物, 進化

1. 研究開始当初の背景

植物は陸上へと進出した後、地球上のさま

ざまな環境 (熱帯～冷温帯, 高山, 乾燥地, 岩上, 樹上, 河川, 海) に進出・適応し, 多

様化を遂げてきた。現生の陸上植物の種数は25万種にもものぼり、地球上の多様な環境が植物の多様性をつくりあげてきた。4.8億年前に陸上へと進化した植物のうち、現生する陸上植物の8割の種が菌と共生する。化石情報から初期の陸上植物は既に菌と共生し、植物の陸上という新たな環境への進化には、菌との共生関係が重要であった可能性が指摘されている。

現生の陸上維管束植物の10%は、他の植物体上で生育する着生植物である。着生植物はさまざまな分類群に見られることから、着生化は何度も起こったと推定される。着生維管束植物の多くは木本性被子植物の上で生育するため、白亜紀以降に形成された比較的新しい環境へ進出・適応したと予想される。これまでの私の研究からラン科、シダ植物など複数の分類群にみられる多様な着生植物が、どのように樹上へと進化したかを研究してきた結果、その進化過程も多様なことが明らかになってきた。

着生植物全体の6割を占めるラン科植物でみられる Hymenomycetes (担子菌門) は、ラン科とのみ共生関係が知られる。ラン科とは遠縁だが着生種が多いツツジ科は、ツツジ科に特有な Leotiomycetes (子囊菌門) と、その他多くの陸上植物はグロムス菌門と共生する (Brundrett 2002)。植物の樹上への進化には、類似した樹上性の菌との共生関係の収斂的な獲得や、植物と菌の樹上への共進化が起こった可能性があるが、樹上という新環境へ植物が進出した際、共生していた菌が遺伝的、生理的、生態的にどう変化したかはこれまで謎であった。

2. 研究の目的

本研究では、地上から樹上へと進化した着生植物に着目し、着生植物の進化に伴う共生菌の遺伝的分化、各菌が植物の生育に与える影響を明らかにし、着生植物の進化に菌がどれほど重要かを推定する。材料には着生種と地生種が近縁で、かつ共生菌が異なると予想される、複数の分類群を用い、着生種の進化

に伴う共生菌の系統進化 (共進化や収斂) や、平行して生じた着生植物の進化に対する菌の関与を比較し、植物の新環境への進化に菌が果たした役割を推定する。

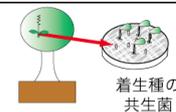
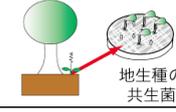
3. 研究の方法

(1) 植物の着生性の進化に伴う共生菌の遺伝的分化を明らかにするため、植物は葉緑体や核 ITS 領域を解析し系統関係を推定した。菌類は核の ITS 領域やミトコンドリア ML 領域を解析し、分子同定を行い、菌根菌の系統解析を行った。

(2) 菌が植物の生育にどれほど関与しているかを明らかにするために、図1のように実験室内で着生種と近縁な地生種を各共生菌と共生培養し、発芽率、その後の生育率測定を行った。さらに図2のように burial 法による野外での培養実験により、環境による植物の生育パターンを比較した。

ラン科クモキリソウやツツジ科スノキ属など着生植物を含む複数分類群を対象とし、サンプリングと調査は、主に日本、そして東南アジアで行った。

図1 共生菌による植物の生育パターン

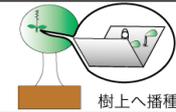
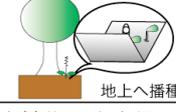
	発芽率	その後のステージ(率)	
		1	2
 着生種の共生菌	着生種	A	AA AAA
	地生種	b	bb bbb
 地生種の共生菌	着生種	a	aa aaa
	地生種	B	BB BBB

◆植物の菌に対する生育依存度
 a/A (b/B) ≈ 1 …低い. a/A (b/B) ≈ 0 …高い

図2 Burial 法



環境による植物の生育パターン

	発芽率	その後のステージ(率)	
		1	2
 樹上へ播種	着生種	C	CC CCC
	地生種	d	dd ddd
 地上へ播種	着生種	c	cc ccc
	地生種	D	DD DDD

◆植物は生育場所に分化しているか
 c/C ≈ 0 …発芽時に分化
 $c/C \neq 0$ & cc/CC (ccc/CCC) ≈ 0 …発芽後に分化

4. 研究成果

近縁で生育場所が異なるラン科クモキリソウ属のフガクスズムシソウ（着生）とクモキリソウ（地生）を用いて、両種の複数自生地からシングルペロトン法により菌を単離し、単離した株の核 ITS 領域とミトコンドリア RNA large subunit 領域を解析し、菌種を分子同定した。その結果 2 種から得られた菌は、全て担子菌 *Tulasnella* と単系統となることから、*Tulasnella* と同定された。これらは、一部のクモキリソウ由来の菌株を除いて、99%以上の相同性をもっていたが、フガクスズムシソウの共生菌は、クモキリソウの共生菌と区別可能な 1 塩基置換が ITS 領域で共通して見られ、遺伝的にはわずかに異なることが明らかになった。

ラン科植物の種子は発芽時に菌の感染が必要である。フガクスズムシソウ、クモキリソウの種子を、2 種から単離した菌と個々に共生培養し発芽率を比較したところ、着生種はすべての菌株で高い発芽率を示すのに対し、地生種は同種由来の菌株でのみ高い発芽率を示した。一方でその後のステージであるプロトコームの分化率を比べると、着生種は同種由来の菌株とのみ高い発芽率を示し、地生種由来の菌株とはプロトコームを形成した個体はわずかであった。自生地での播種実験でも同様に、着生種は地上でも樹上でも発芽する一方、地生種は地上でのみ発芽が見られた。着生種では、その後のステージであるプロトコームは樹上でのみ観察され、地上では見られなかった。これらの結果から、菌の違いにより、植物の発芽率やプロトコーム分化率が異なり、菌の分化がフガクスズムシとクモキリソウの生育場所の分化に関与していると推定された。さらに、上記の研究過程で明らかになった、クモキリソウ属の複数の新種や分類に関する新知見を発表した。

ツツジ科スノキ属の着生種ヤドリコケモモと着生種アキシバモドキ、およびこれらと近縁と推定される種について、材料収集し、葉緑体と核の遺伝子を用いた系統解析を行い、それぞれの近縁種を推定し、結果を論文

としてまとめた。

解析した着生種アキシバモドキとその近縁種である地生種ウスノキやスノキ、そして屋久島では地上でも樹上でも生育するサクラツツジ、ヒカゲツツジ、ヤクシマシヤクナゲについて、一部の菌根菌を単離し分子同定を行った結果、多くが子のう菌 *Cryptosporiopsis* の類縁種で、着生と地生で菌種の明確な差異はこれまで認められなかった。

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 7 件）

- ① Tsutsumi C. The phylogenetic positions of four endangered *Vaccinium* species in Japan. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science Series B (Botany)* 37 巻, 79-86, 2011 年. 査読有.
- ② Lee C. S., Tsutsumi C., Yukawa T., and Lee N. S. Two new species of the genus *Liparis* (Orchidaceae) from Korea based on morphological and molecular data. *Journal of Plant Biology of Korea* 53 巻, 190-200 頁, 2010 年. 査読有.
- ③ Tsutsumi C. and Kato M. Rhizome morphology and patterns of leaf production of secondary hemiepiphytic *Oleandra pistillar* (Oleandraceae). *Bulletin of the National Museum of Nature and Science Series B (Botany)* 36 巻, 21-25 頁, 2010 年. 査読無.
- ④ Tsutsumi C. and Kato M. Morphological study of pseudopeltate scales in *Davallodes hymenophylloides* and *Wibelia divaricata* (Davalliaceae). *Bulletin of the National Museum of Nature and Science Series B (Botany)* 35 巻, 17-21 頁, 2009 年. 査読無.
- ⑤ Tsutsumi C. and Yukawa T. Taxonomic status of *Liparis japonica* and *L. makinoana* (Orchidaceae); A Preliminary Report. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science Series B (Botany)* 34 巻, 89-94 頁, 2008 年. 査読無.

⑥ Tsutsumi C. and Kato M. Morphology and evolution of epiphytic Davalliaceae scale. *Botany* 86 卷, 1393-1403 頁, 2008 年. 査読有

⑦ Tsutsumi C., Yukawa T., Lee N. S., Lee C. S. and Kato M. A new species of *Liparis* from Japan and Korea. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 59 卷, 211-218 頁, 2008 年. 査読有.

〔学会発表〕(計 4 件)

① Tsutsumi C. Phylogenetic taxonomy of Davalliaceae and the evolution of epiphytes. 8th Flora Malesiana Symposium (Singapore Botanical Garden). 2010. 8.27.

② 遊川知久・辻田有紀・堤千絵・横山潤. なぜラン科は多様なのかー菌根菌パートナーのシフトがもたらしたランの生活形と栄養摂取様式の進化. 日本植物学会第 73 回大会 (山形大学) . 2009. 9.20.

③ Tsutsumi, C., T. Yukawa, K. Miyoshi & M. Kato. Molecular phylogeny and evolution of *Liparis* section *Liparis* (Orchidaceae) in Japan. The fourth International Conference on The Comparative Biology of the Monocotyledons (University of Copenhagen). 2008. 8.11-15.

④ 堤千絵・遊川知久・辻田有紀・細矢剛・加藤雅啓. 着生種フガクスズムシ (ラン科クモキリソウ属) と近縁な地生種の共生菌の分子系統. 日本植物学会第 72 回大会 (高知大学) . 2008.9.25.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堤 千絵 (TSUTSUMI CHIE)

国立科学博物館・植物研究部

研究者番号 : 30455422