様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　７ 年　 ６ 月 １１ 日現在

機関番号：１１５０１
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2020～2023
課題番号：２０Ｈ０３３１８

研究課題名（和文）夏緑樹林におけるアーバスキュラー菌根共生の実態解明

研究課題名（英文）Arbuscular mycorrhizal symbiosis in broad-leaved deciduous forests

研究代表者
富松　裕（Tomimatsu, Hiroshi）

山形大学・理学部・教授

研究者番号：４０５５５３９８

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　13,200,000円

研究成果の概要（和文）：大多数の陸上植物はアーバスキュラー菌根菌（AM菌）と共生しており、生態系の一次生産や物質循環における菌根共生の重要性は広く認識されている。しかし、植物とAM菌の共生関係は、これまで実験環境下で解明されてきた部分が大きい。菌根の「実際の機能」を理解するためには、野外での研究推進が不可欠である。本研究では、北日本の夏緑樹林を対象として、植物とAM菌による菌根共生の実態を従来とは異なる観点から明らかにした。具体的には、林冠木と林床植物とでAM菌群集が異なること、森林生態系ではAM菌との共生関係が植物の成長とともに緩やかに進行することなどが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
森林生態系における菌根共生の研究では、これまで主に外生菌根が注目されてきた。外生菌根菌と共生する種はわずか２％ほどだが、その大部分が林冠木であること、外生菌根菌が子実体（きのこ）をつくること、菌根が肉眼で容易に観察できることなどから、野外でも多くの研究が行われてきた。しかし、それ以外の林冠木や大部分の林床植物が共生しているAM菌は、外生菌根菌とは門レベルで異なっており、知見がそのまま当てはまらない。本研究は、これまで見過ごされてきた菌根共生の新たな理解に繋がると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The majority of terrestrial plants form symbiotic associations with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi, and the importance of mycorrhizal symbiosis in primary production and nutrient cycling of ecosystems is widely recognized. However, much of our understanding of AM symbiosis has been derived from studies conducted under experimental conditions. To comprehend the 'actual functions' of AM, it is essential to promote research in natural field settings. In this study, we examined the reality of AM symbiosis by focusing on temperate deciduous forests in northern Japan. Specifically, we demonstrated that AM fungal communities differ between canopy trees and understory plants, and that in forest ecosystems, the symbiotic relationship with AM fungi progresses gradually as plants grow.

研究分野：植物生態学

キーワード：夏緑樹林　アーバスキュラー菌根　菌根共生ネットワーク　DNAメタバーコーディング分析　生活史

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

１．研究開始当初の背景

維管束植物の 71 % が根圏でアーバスキュラー菌根菌（＝AM 菌）と共生し、菌根（菌と根の複合体）をつくる（Brundrett & Tedersoo, 2018）。これは 4 億年前から続く、陸上生態系で最も普遍的に見られる共生関係であり、植物は AM 菌に光合成産物を提供する代わりに、AM 菌からリンや窒素などの栄養塩を得ている（Smith & Read, 2008）。植物は 10〜20 % の光合成産物を菌根菌に供給する一方で、最大で 90 % ものリンの獲得を AM 菌に依存しており、生態系の一次生産や物質循環における菌根共生の役割は大きい（van der Heijden *et al.*, 2015）。

このような菌根がもたらす機能は、これまで主に温室や実験室内において、特定の AM 菌を植物に接種する操作実験を通じて明らかにされてきた。しかし、野外では AM 菌がそれぞれ複数の植物種と共生する複雑な相互作用ネットワークが存在する。また、菌根共生の効果は植物と AM 菌の組み合わせによって異なることが知られるが（Hoeksema *et al.*, 2010）、従来の実験のほとんどは作物や草原生の植物を材料としており、多くの野生植物、特に森林生の植物種では野外においてどのような菌種と共生しているのかも十分に分かっていない。自然環境下における菌根の機能を理解するためには、まず自生地における菌根共生の実態を把握することが不可欠である。

野外から単離した AM 菌をさまざまな植物種へ接種したポット実験では、どの植物も多くの AM 菌と共生できることが示されている。そのため当初は、植物の AM 菌に対する選好性は低いと考えられていた。2010 年代になると、野外では植物種によって共生する AM 菌群集が異なり、共生パートナーに対する選好性の存在が明らかになったが（Davison, 2011; Sepp *et al.*, 2019）、相互作用ネットワークの全体像は依然として未解明である。AM 菌の菌糸体は多くの植物によって支えられているため、たとえ AM 菌に多くの光合成産物を供給できない個体でも、栄養塩の見返りを十分に受けられる可能性がある（Walder *et al.*, 2012）。このため、生産力の乏しい林床植物は、林冠木と共通した AM 菌と共生するのが有利となりうる。林床植物が大部分の AM 菌を林冠木と共有すれば、相互作用ネットワークはネスト構造を示すかもしれない。

また先行研究では、植物の実生（芽生え）が出現してから、わずか数日で AM 菌と共生を始め、その後、急速に共生の程度が高まって頭打ちになることから（Sanders *et al.*, 1977; Birch, 1986; Varga & Kytoviita, 2016）、初期の定着過程における菌根共生の重要性が強調されてきた。確かに、これまで実験に用いられてきた植物は、栄養塩が不足しやすい開けた環境に生育しており、AM 菌といち早く共生して栄養塩を獲得することが重要であることは想像に難くない。しかし森林生態系では、実生の定着過程で栄養塩よりも光が強く制限されることから、生活史の初期段階における菌根共生の意義は不明瞭である。

２．研究の目的

本研究は、北日本の夏緑樹林を対象として、植物と AM 菌による菌根共生の実態を、植物と AM 菌の相互作用ネットワーク、AM 菌群集の形成過程における宿主植物の重要性、植物の生活史を通じた菌根共生の時間動態の観点から明らかにすることを目的とした。

３．研究の方法

（1）北海道の夏緑樹林に 12 ヶ所の調査区を設置し、各調査区内に生育する植物種 1 個体ずつから菌根を採取した。また、各調査区における土壌環境を測定した。この森林（2 林分）はヤチダモやハルニレ、イタヤカエデが優占し、多様な林床植物が生育する。また、ほとんどの植物が AM 菌と共生することから、菌根共生ネットワークの分析に適した研究系である。植物と共生する AM 菌群集の DNA メタバーコーディング分析を行うため、4 ヶ所以上の調査区から菌根が得られた計 31 種（林冠木 5 種、中間層の低木やつる植物 5 種、林床植物 21 種）について、凍結乾燥した菌根から DNA を抽出し、AM 菌に特異的なプライマーを用いて rRNA 遺伝子の小サブユニット領域（約 540 bp）を PCR 増幅した。その後、次世代シーケンサー Illumina Miseq を用いた 2 × 300 bp のペアエンドシーケンシングを実施したが、リバース側配列の一部が取得できず、試行錯誤を行っても問題は解消しなかった。そのため、情報量の多いフォワード側配列 260 bp を分析に用いた。得られた配列データは Qiime2（Bolyen *et al.*, 2019）を用いて処理し、AM 菌の国際データベース（Öpik *et al.* 2010）と q2-feeature-classifier プラグインを用いて ASV（amplicon sequence variants）の属を

図1. アーバスキュラー菌根菌の DNA メタバーコーディング分析を行った北海道の夏緑樹林。林冠木5種、中間層の植物5種、林床植物21種について分析を行った。

同定した。各サンプルのリードから 2000 リードを無作為に抽出し、データ解析に用いた。

（2）夏緑樹林に生育する林冠木（ヤチダモとハルニレ）と林床植物（オオバナノエンレイソウとスミレサイシン）の計 4 種について、生活史初期における菌根共生の発達過程を調べた。調査は北海道および東北地方の夏緑樹林で行い、樹木では発生した当年生実生を標識し、2 週間～1 ヶ月間隔で採集した。また、成木からも菌根を採取したほか、ヤチダモでは 2 年生以降の稚樹からも菌根を採集し、芽鱗痕をもとに年齢を推定した。草本では、生育段階の異なる個体から菌根を採集し、オオバナノエンレイソウでは塊根に見られる縞から年齢（minimum age）を推定した。菌根はトリパンブルーで染色した後、生物顕微鏡下で菌根共生率（根の長さに対する AM 菌の存在率として共生の程度を表す）を測定した。なお、ヤチダモでは *Arum* 型、それ以外の 3 種では *Paris* 型の AM 菌根が見られた。

４．研究成果

本研究における成果の概要は以下のとおりである。

（1）次世代シーケンシングによる DNA メタバーコーディング分析の結果、 Glomeraceae 科や Claroideoglomeraceae 科、Archaeosporaceae 科等に属す多様な AM 菌が検出された。各菌根における AM 菌群集の多様性（taxonomic richness）は、林冠木や中間層の植物でやや高かったが、その差は大きくなかった。群集組成は植物種とその生育型、調査区によって有意に異なっていた（Permutational Analysis of Variance, $P < 0.05$）。調査区は林縁からの距離に応じて土壌環境が異なっていたが、植物種とその生育型は調査区よりも種組成の違いをよく説明した。林床植物で検出された ASV のうち、林冠木と共通していたのは 30 % 程度に過ぎず、多くの ASV は林床植物でのみ観察された。また、その結果、相互作用ネットワークはネスト構造を示さなかった。生育型による違いをさらに明らかにするために、全体を通して出現頻度が最も高かった Glomeraceae 科が占める割合を比較したところ、割合は生育段階間で有意に異なり、林冠木で高く、林床植物で顕著に低かった（図 2）。半自然草原において近年行われた研究では、植物 8 種が実生から開花個体へと成長する過程で、Glomeraceae 科が占める比率が顕著に高まることが報告された（Šmilauer *et al.*, 2021）。現段階で理由は不明だが、AM 菌の系統によって宿主植物に対する炭水化物の要求性が異なる可能性が考えられる。

（2）林冠木および林床植物 4 種のいずれにおいても、菌根共生率は成長に伴って上昇する傾向が見られた。ハルニレの当年生実生における菌根共生率は日齢とともに上昇したが、発芽した年の共生率はせいぜい 20 % 程度と、成木（41.8 %）に比べると顕著に低かった（図 3a）。ヤチダモでは、同じ日齢でも菌根共生率には個体間で大きな変異が見られ、乾燥重量の大きな個体ほど共生率が高かった。オオバナノエンレイソウの開花個体は AM 菌と密接に共生していたが（85.9 ± 2.0 %）、当年生実生の菌根共生率は 1.1 ± 0.6 % と低く、さらに 1 年以上が経過した幼植物でも 17.3 ± 3.1% に過ぎなかった（図 3b）。すなわち、従来の報告とは異なり、共生関係は緩やかに進行していた。また、オオバナノエンレイソウでは、明るい場所に生育する開花個体ほど菌根共生率が高くなっていた。これらの結果から、AM 菌との共生関係は、植物の成長速度（栄養塩の要求量）に応じて制御

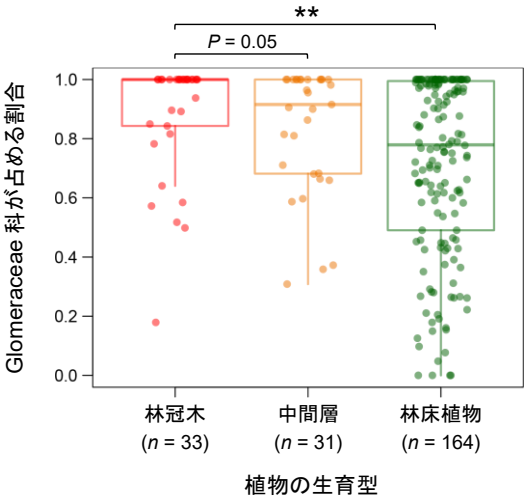

図2. 各菌根においてGlomeraceae科のリードが占める割合。林床植物ではGlomeraceae科が占める割合が顕著に低い（** $P < 0.01$）。

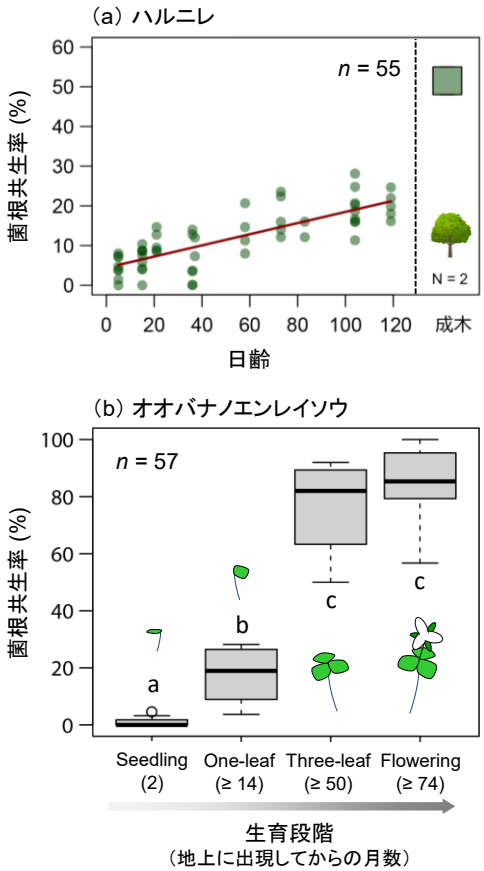

図3.（a）ハルニレと（b）オオバナノエンレイソウにおける菌根共生率の時間動態（bはMurata-Kato *et al.*, 2022より）。従来の報告とは異なり、菌根共生は成長の過程で緩やかに進行していた。

されていることが示唆された。

　このように、多様な植物が生育する夏緑樹林をモデル系とした研究を通じて、これまで見過ごされてきた菌根共生の新たな側面を一定程度、解明することができたと考えている。

引用文献

Birch CPD. 1986. Development of VA mycorrhizal infection in seedlings in semi-natural grassland turf. In: Mycorrhizae: physiology and genetics. Paris: INRA, 233–237.

Brundrett MC, Tedersoo L. 2018. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist* 220: 1108–1115.

Davison J. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in plant roots are not random assemblages. *FEMS Microbiol Ecology*: 103–115.

van der Heijden MGA, Martin FM, Selosse M-A, Sanders IR. 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist* 205: 1406–1423.

Helgason T, Merryweather JW, Denison J, Wilson P, Young JPW, Fitter AH. 2002. Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland. *Journal of Ecology* 90: 371–384.

Hoeksema JD, Chaudhary VB, Gehring CA, Johnson NC, Karst J, Koide RT, Pringle A, Zabinski C, Bever JD, Moore JC, *et al.* 2010. A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. *Ecology Letters* 13: 394–407.

Öpik M, Vanatoa A, Vanatoa E, Moora M, Davison J, Kalwij JM, Reier Ü, Zobel M. 2010. The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *New Phytologist* 188: 223–241.

Sanders BYFE, Tinker PB, Black RLB, Palmerley SM. 1977. The Development of endomycorrhizal root systems: I. spread of infection and growth-promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte. *New Phytologist*, 78: 257-268.

Sepp S, Davison J, Jairus T, Vasar M, Moora M, Zobel M, Öpik M. 2019. Non-random association patterns in a plant-mycorrhizal fungal network reveal host-symbiont specificity. *Molecular Ecology* 28: 365–378.

Šmilauer P, Šmilauerová M, Kotilínek M, Košnar J. 2020. Foraging speed and precision of arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions: An experimental approach. *Molecular Ecology* 29: 1574–1587.

Smith SE, Read D. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis, 3rd edition*. London, UK: Academic Press.

Varga S, Kytöviita M. 2016. Faster acquisition of symbiotic partner by common mycorrhizal networks in early plant life stage. *Ecosphere* 7: e01222.

Walder F, Niemann H, Natarajan M, Lehmann MF, Boller T, Wiemken A. 2012. Mycorrhizal Networks: Common Goods of Plants Shared under Unequal Terms of Trade. *Plant Physiology* 159: 789–797.

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計1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 Murata-Kato, S., Sato, R., Abe, S., Hashimoto, Y., Yamagishi, H., Yokoyama, J. and Tomimatsu, H.	４．巻 234
２．論文標題 Partial mycoheterotrophy in green plants forming Paris-type arbuscular mycorrhiza requires a thorough investigation	５．発行年 2022年
３．雑誌名 New Phytologist	６．最初と最後の頁 1112-1118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/nph.18049	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 －

〔学会発表〕　計7件（うち招待講演　0件／うち国際学会　0件）

１．発表者名 今田多嬉子，富松裕
２．発表標題 落葉広葉樹ヤチダモの成木および当年生実生と共生するアーバスキュラー菌根菌群集
３．学会等名 第72回日本生態学会大会
４．発表年 2025年

１．発表者名 佐久間夕芽，富松裕
２．発表標題 林床植物群集の細根形質と種組成：森林内の局所的な環境勾配に沿った変異
３．学会等名 第70回日本生態学会大会
４．発表年 2023年

１．発表者名 菊地奈菜美，佐久間夕芽，富松裕
２．発表標題 ヤチダモの生活史初期におけるアーバスキュラー菌根共生の時間的変化
３．学会等名 第69回日本生態学会大会
４．発表年 2022年

１．発表者名
横山潤，富松裕

２．発表標題
菌従属栄養植物の進化研究の歴史と今後の展開

３．学会等名
東北植物学会第11回大会

４．発表年
2021年

１．発表者名
佐久間夕芽，富松裕

２．発表標題
森林内の局所的な環境勾配に沿って生育する林床植物の細根形質

３．学会等名
第53回種生物学シンポジウム

４．発表年
2021年

１．発表者名
佐藤莉咲，村田怜，橋本靖，山岸洋貴，松尾歩，陶山佳久，横山潤，富松裕

２．発表標題
夏緑樹林に生育する植物とアーバスキュラー菌根菌の相互作用ネットワークの分析

３．学会等名
第68回日本生態学会大会

４．発表年
2021年

１．発表者名
佐久間夕芽，佐藤莉咲，富松裕

２．発表標題
林床植物21種における根形質とアーバスキュラー菌根菌感染率の種間変異

３．学会等名
第68回日本生態学会大会

４．発表年
2021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	横山　潤 (Yokoyama Jun) (80272011)	山形大学・理学部・教授 (11501)	
研究分担者	松尾　歩 (Matsuo Ayumi) (90868754)	東北大学・農学研究科・助教 (11301)	

７．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

８．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関