

## 科学研究費補助金研究成果報告書

平成 24 年 4 月 30 日現在

機関番号：32665  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21710245  
 研究課題名(和文) ツツジ属植物と菌根共生する菌類の種多様性とその維持機構の解明  
 研究課題名(英文) Species diversity of mycorrhizal fungi associated with Japanese ericaceous plants

## 研究代表者

廣瀬 大 (HIROSE DAI)  
 日本大学・薬学部・助教

研究者番号：20513922

## 研究成果の概要(和文)：

わが国に広く分布するツツジ属植物と菌根共生する *Oidi dendron* 属菌の種多様性の実態を明らかにした。局所スケールと地理的スケールの分布調査に加え、塩基配列に基づく分子系統解析、培養菌株を用いた生理生態学的実験を行った。その結果、わが国には未記載種 14 種を含む 22 種が分布し、いずれの種も菌根形成能力を有することが分かった。*Oidi dendron maius* は気候帯によらず広く分布していた。本種と近縁な未記載種が相次いで発見されたことから、本種はツツジ属植物の多様化と共にアジア地域で分化した可能性がある。

## 研究成果の概要(英文)：

Species diversity of the genus *Oidi dendron* associated with Japanese ericaceous plants has been studied. Survey of the local and geographical scale distribution, phylogenetic analysis, and ecophysiological experiments using fungal cultures were conducted. As a result, 22 species including 14 undescribed species were found to be distributed and possess the ability of mycorrhizal formation.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

## 研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：資源保全学、微生物保全

キーワード：菌類・環境・生態・生物多様性・ツツジ・菌根共生・分布・資源保全

## 1. 研究開始当初の背景

菌根共生は植物と菌類との相利共生的関係として知られ、多くの陸上生態系においてほぼ普遍的にみられる生物間相互作用である (Smith and Read 1997)。近年の菌根菌の種多様性に関する研究から、多くの植物は予想を上回る多種多様な菌根菌種と共生関係

を築いていることが明らかにされている。しかし大型の動植物ではすでに明らかにされている種多様性の分布パターンやその制限要因に関する研究は立ち後れており、菌根菌の種多様性の実態は謎に包まれている。植物と密接に関わるこの菌類群は植物保全を考える上でも重要であるため、菌根菌の種多様

性を巡る生態学的調査は急務である。

本研究ではツツジ属植物-*Oidi dendron* 属菌共生系をモデル材料とした調査を行った。ツツジ属植物はツツジ科植物の中でも最も種数が多く、本邦の森林の下層植生で優占する本種の一つであることに加え、緯度や標高を問わず広く分布している。一方、*Oidi dendron* 属菌は本邦のヤマツツジ根系で優占することが知られていることに加え (Usuki et al. 2003)、分離・培養が容易なことから北方地域においては分類学的及び生理生態学的調査が詳細に行われている (Rice and Currah 2005)。さらに、研究代表者が行ってきた本属の種多様性に関する予備調査から分布パターンに生息環境や気候帯との相関関係を期待させる結果が得られていた。このような理由から、ツツジ属植物-*Oidi dendron* 属菌共生系は、陸上生態系における菌根菌類の種多様性が維持される機構を個々の菌の生態的特性や環境要因、系統学的要因の点から実証的に説明出来る系であると考え研究計画を立案した。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ツツジ属植物と菌根共生する *Oidi dendron* 属菌の本邦における種多様性の分布パターンを明らかにし、その生息環境と系統学的関係、個々の種の生理生態的特性を評価することで分布パターンの制限要因を解明することである。

ツツジ属植物は本邦では 43 種記載されておりツツジ科の中で最も多様性の高い一群である。その種多様性は生育環境の多様性に反映されており、比較的肥沃な森林環境から貧栄養な岩盤質環境まで多くの植生帯でごく普通に生育している。本邦におけるこの様なツツジ属植物の適応放散を可能にしたのはエリコイド菌根菌と相利共生関係築いたためであると推測され、植物の種分化に対応し菌根菌も多様化した可能性がある。しかし、本邦におけるエリコイド菌根菌の種多様性に関する研究例は僅か一例しかなくその実態は殆ど明らかになっていない。

本研究では本邦に広く分布していることに加え分類学的検討が充分に行われている *Oidi dendron* 属菌を材料としその種多様性の実態を明らかにする。異なる気候帯や植生帯で調査を行うことにより本属の局所的及び広域的な分布パターンを解析し、そのパターンの制限要因を生息環境や系統関係、さらには培養が容易な本属菌の特性を生かした室内実験を行うことで実証的に解明する。

## 3. 研究の方法

(1) 本邦産ツツジ科植物の根内生息菌の種多様性：ツツジ属、スノキ属、イソツツジ属、アセビ属が自生する 12 地域 (北海道恵山、

天塩岳、硫黄山、雌阿寒岳、青森県恐山、山梨県金峰山、埼玉県本庄、長野県西駒ヶ岳、奈良県神野山、鹿児島県屋久島、奄美大島、沖縄県やんばる) で植物根を採取した。各採取地で 5 個体の細根を約 10 cm 採取し、実験室に持ち帰った。持ち帰った根は、界面活性剤による洗浄、塩化水銀による表面殺菌を行った。CMA 培地入りのマイクロプレート上に細分化した根を静置し培養、根から培地上に成長してきた菌糸を新たな培地上に移植することで菌株を確立した。得られた約 1300 菌株について、形態的特徴と rDNA の ITS2 領域と 28S rDNA D1-D2 領域の塩基配列から種同定を行った。これらの結果に基づき、群集解析を行った。

(2) 本邦の *Oidi dendron* 属の種多様性：緯度と標高の点で国内を網羅するように 110 地点を選択し、各地においてツツジ根を採取した。採取した根における *Oidi dendron* 属菌の分離・培養は界面活性剤を用いた洗浄法 (Tokumasu 1998) により行った。菌種の同定は形態的特徴と rDNA ITS 領域の塩基配列情報に基づき行った。

(3) *Oidi dendron* 属の生理生態学的特性：(2) で分離された菌株のうち各種 1-2 菌株を用い、成長最適温度及び pH、菌根形成能力を評価した。pH を 5、7、9、11 に調整した CMA 培地上に孢子懸濁液を滴下し 20°C 暗所下で 28 日間培養し成長最適 pH を推定した。5、10、15、20、25、30、35°C 暗所下で 28 日間培養し、その成長量を測定することで成長最適温度を推定した。菌根形成能力は、先行研究により開発した無菌化したレンゲツツジ実生苗を用いた菌根合成系で行った。栄養培地を入れた試験管内で菌株を約一ヶ月前培養した後、無菌化したピートモスを入れ実生苗を二本単位で植えた。6 ヶ月間培養後、実生を回収し、菌根形成の有無を評価した。

## 4. 研究成果

(1) 本邦産ツツジ科植物の根内生息菌の種多様性：全採取地のツツジ根内から合計 81 種の菌が分離された。このうち 36 種がビョウタケ目 (Helotiales) に属する菌であった。いずれの採取地においても複数種のビョウタケ目菌類が分離されたが、土壌 pH が非常に低い恐山と硫黄山、雌阿寒岳で種多様性が低かった。Helotiales 1 は全ての採取地で、*Phialocephala fortinii* は南西諸島を除く全ての地点で分離され、どちらも温帯~寒帯を代表する種であると推測された。一方、Helotiales 11 は亜熱帯地域で分離頻度が高い傾向にあった (図 1)。本調査において *Oidi dendron* 属は 2 種 (*Oidi dendron* sp.TW1 と *O. maius*) 分離されたが、高頻度で分離されたのは *O. maius* のみであった。本種の分離頻度と年平均気温の間には相関

関係はみられなかったが、年平均気温が低い地点で頻度が低い傾向がみられた(図2)。地点間でみられた頻度の違いは、気候的要因だけでなく土壌環境など土地的要因を反映している可能性がある。

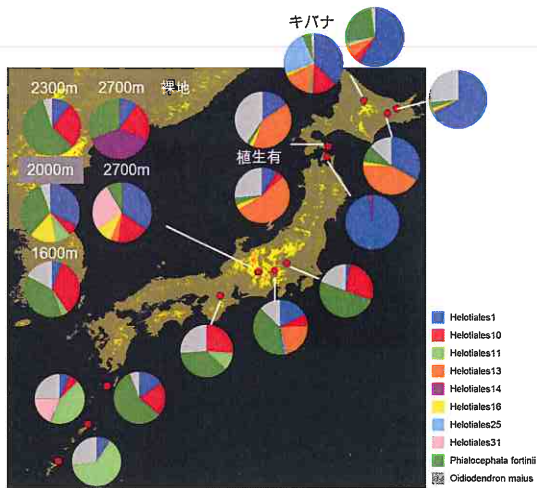


図1 高頻度で出現したビョウタケ目菌群集の地理的パターン。

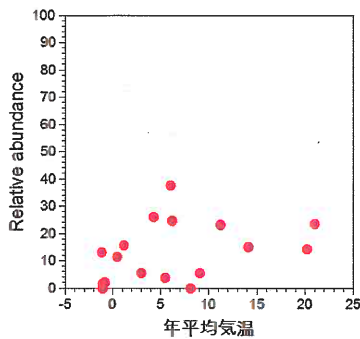


図2 *Oidioidendron maius* の出現パターン。

(2) 本邦の *Oidioidendron* 属の種多様性: 110の調査地点(図3)中100地点で本属菌の分布を確認することが出来た。この結果は、本属は本邦において緯度や標高に関わらず広く分布していることを示している(図4)。本調査から本邦には既知種8種と未記載種14種、合計22種が少なくとも分布していることが明らかになった。それぞれの種の地理的分布にはパターンがみられ、気候的要因に依存する種とそうでない種がいることが明らか

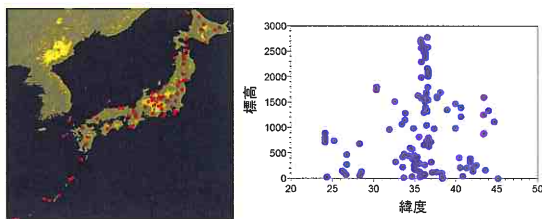


図3 ツツジ根の採取地。

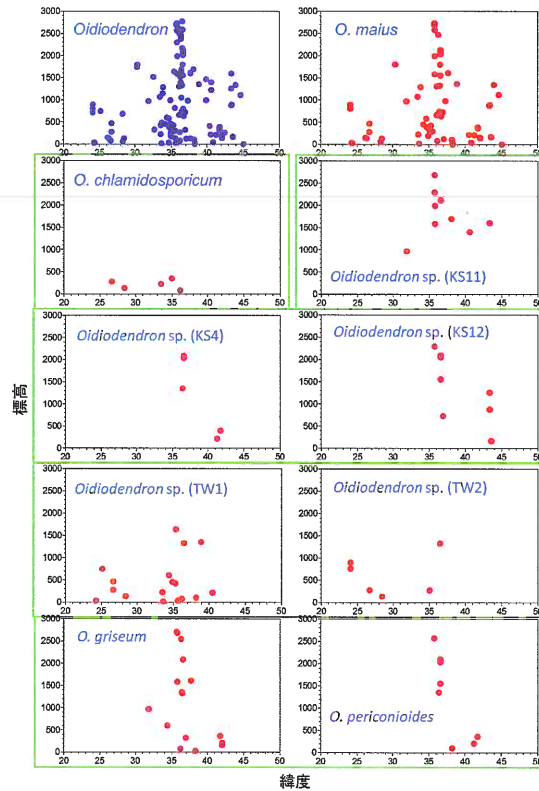


図4 *Oidioidendron* 属菌各種の分布パターン。

かになった(図4)。また群馬県草津白根山で行った同一山系内における局所スケールでの分布調査の結果、周辺植生の変化に伴い種構成に変化がみられることが明らかになった。この結果は、地理的分布の結果と矛盾しないが、地理的分布が気候的要因だけで説明できないことも示唆している。

### (3) *Oidioidendron* 属の生理生態学的特性:

成長最適温度は概ね種の地理的分布を反映しており、高緯度もしくは高標高を好む種は15-20°C、温帯域から亜熱帯域を好む種は25-30°Cに成長のピークがみられた。成長最適pHはツツジ根採取地の土壌環境を反映しており、殆ど全ての種でpH5で成長のピークがみられた。

菌根合成試験の結果、分離した全ての種がエリコイド菌根形成能力を有することが明らかになった。この結果から、本邦のツツジ根内で優占している種は *O. maius* のみであったが、ツツジ根圏には菌根形成能力を有する多様な種が生息していることが分かった。

菌根合成試験の結果と28S rDNAの塩基配列に基づく分子系統解析の結果から、本属はエリコイド菌根形成能力を獲得し多様化したと推測された(図5)。

エリコイド菌根菌群集で優占する種の1つである *O. maius* に関しては、本邦を含む東アジア・オセアニア地域で遺伝的に多様化し

た可能性を示唆する結果が得られた (図 6)。本邦にいるツツジ科植物の種分化と関連してどの様なプロセスで本種が分布を広げてきたのかを明らかにするためには、今後、多型の高いマイクロサテライトマーカーを用いた集団遺伝学的解析を行う必要がある。

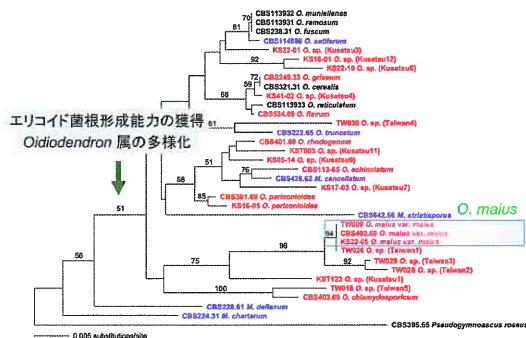


図 5 28S rDNA の部分塩基配列に基づく *Oidiiodendron* 属の分子系統樹。赤字：エリコイド菌根形成能力有、青字：無、黒字：不明

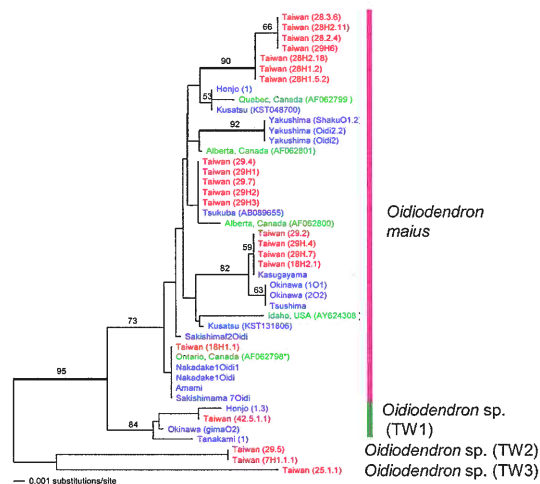


図 6 rDNA ITS 領域の塩基配列に基づく *O. maius* とその近縁種の分子系統樹。

陸上生態系においてほぼ普遍的にみられる植物と菌根菌の相利共生関係は、生態系機能に関与する重要な生物間相互作用として認識されており、菌根菌の生態研究は現在世界的に精力的に行われている。世界の様々な森林や草原における菌根菌の種多様性が明らかになりつつあるが、その多様性にどのような規則性があるかについて生態学的アプローチから実証的に示した研究は殆どない。本研究では多様な気候帯と植生帯のある本邦の環境を生かし、林レベルの局所的スケールと本邦全域にわたる広域的スケールにおける菌根菌の種多様性とその分布パターンを明らかにし、従来の菌根菌の多様性研究で

は解明されていない種多様性と気候帯や植生帯との関連性を明らかにした。本研究で材料として選択したツツジ科植物と *Oidiiodendron* 属菌は共に世界中に分布する生物であり、本研究により得られる種多様性と分布パターンに関する結果の汎用性は高いと期待される。今後は、各菌種の生態的機能や菌種間もしくは宿主間との相互作用を明らかにすること、個々の種に着目した集団遺伝学的解析を進めることにより、本邦における分布パターンの制限要因や形成プロセスを探求する試みが必要である。このような試みは、世界的にみてもこれまでの菌根菌の生態研究で初の試みであり独創性が高い研究に発展すると思われる。

### 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 1 件)

① Dai Hirose, Takashi Shirouzu, Seiji Tokumasu, Host range and potential distribution of ectomycorrhizal basidiomycete *Suillus pictus* in Japan, *Fungal Ecology*, 3 巻、2010、255-260 査読有

[学会発表] (計 4 件)

① 廣瀬大、イソツツジ根系に生息する菌類の種多様性とその地域間比較、第 58 回日本生態学会、2010 年 3 月 18 日、東京大学駒場キャンパス

② 廣瀬大、本邦におけるツツジ科根内生息菌類の多様性とそのパターン、第 10 回日本植物分類学会大会、2011 年 3 月 19 日、筑波大学

③ Dai Hirose、Community structure of root-associated fungi of *Vaccinium* species across an elevation gradient in the Kiso Mountains, central Japan、第 59 回日本生態学会、2012 年 3 月 19 日、龍谷大学瀬田キャンパス

④ 廣瀬大、細矢剛、ツツジ亜科植物根系に生息するピョウタケ目菌類の本邦における系統的多様性、第 11 回日本植物分類学会大会、2012 年 3 月 24 日、大阪学院大学

[図書] (計 4 件)

① 廣瀬大、徳増征二、サイエンスフォーラム、微生物資源国際戦略ガイドブック、2009、447 pp.、pp. 111-119

② 小島久弥、廣瀬大、共立出版、微生物の生態学、2011、264pp.、pp. 16-32

③ 廣瀬大、大園享司、京都大学学術出版会、菌類の生物学—菌類の生活様式を理解する、2011、207pp.

④廣瀬大、京都大学学術出版会、微生物生態学への招待ー森をめぐるマイクロな世界、2012、353pp.、pp. 25-40

[その他]

ホームページ等

<http://kenkyu-web.cin.nihon-u.ac.jp/Profiles/76/0007587/theses.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

廣瀬 大 (HIROSE DAI)

日本大学・薬学部・助教

研究者番号：20513922

### (2) 研究分担者 なし ( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者 なし ( )

研究者番号：