

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (海外学術調査)

研究期間：2013～2015

課題番号：25257411

研究課題名(和文) 東南アジアの持続的森林施業を実現する菌根菌の探索

研究課題名(英文) Exploring ectomycorrhizal fungi for sustainable forestry in Southeast Asia.

研究代表者

奈良 一秀 (Nara, Kazuhide)

東京大学・新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：60270899

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,200,000円

研究成果の概要(和文)：樹木は成長に必要な土壌養分の多くを根に共生する菌根菌に依存している。このため、持続的な森林施業を実現するためには菌根菌に関する知見も不可欠である。本研究では、東南アジアの主要な林業樹木であるフタバガキ科樹木とメルクシマツの生育する森林において菌根菌の学術調査を行った。両方の林分とも、成木に共生している菌種と土壌中で休眠状態にある菌根菌の胞子の組成は大きく異なっていた。また、フタバガキ林とスマトラマツ林で共通する菌根菌はほとんど無く、それぞれの固有種が多かった。

研究成果の概要(英文)：Forest trees depend on mycorrhizal fungi for soil nutrients, which virtually determine tree growth. Thus, we need knowledge about mycorrhizal fungi to realize sustainable forestry. In this study, we investigated mycorrhizal fungi in mixed dipterocarp forests and Sumatran pine forests in Indonesia. In both types of forests, mycorrhizal fungal communities colonizing on mature trees were quite different from the communities of dormant spores in soil. Mycorrhizal fungi found in the Sumatran pine forests were quite different from those of dipterocarp forests, sharing very few species between the forests.

研究分野：森林微生物学

キーワード：熱帯林 菌根菌

1. 研究開始当初の背景

(1) マツ科、ブナ科、カバノキ科、ヤナギ科等の温帯林の優占樹木の細根には、キノコをつくる担子菌類などが共生し、外生菌根が形成されている。接種実験などにより、こうした樹木の養分吸収には外生菌根菌（以下、菌根菌）との共生が不可欠であり、菌根菌無しではほとんど成長しないことが明らかにされている (Smith & Read 2008)。また、攪乱跡地の樹木の定着も、土壤中の菌根菌の分布によって決定されていることも知られている (Nara 2006)。しかし、こうした知見の大部分は温帯林での研究によって得られたものである。

(2) 熱帯林ではフタバガキ科、マメ科（ジャケツイバラ亜科）、フトモモ科等が森林で優占することが多く、林業上も重要な樹種となっている。こうした樹木も菌根菌と共生していること自体はわかっているものの、どのような樹種にどのような菌種がどれくらい共生しているのかなど、基礎的な知見すら十分得られていない。

(3) 近年、伐採や火災などの人間活動の影響によって東南アジアの森林は急速に消失・劣化し、地域経済や地域環境の深刻な問題となっている。一般に熱帯地域での森林再生は難しく、その原因はよく分かっていないが、菌根菌が一つの要因として関与している可能性が考えられている。

2. 研究の目的

(1) インドネシアのフタバガキ林およびスマトラマツ林自然林、およびタイのマツ造林地において成木に共生する菌根菌の種組成と多様性を明らかにする。

(2) 上記のインドネシアの林分において、埋土孢子として土壤中に存在する菌根菌種を特定する。

(3) 得られた菌の DNA 情報をもとに、熱帯林の菌根菌の起源や進化について推定を行う。

(4) 将来の林業への応用や発展研究に向けて、インドネシアの菌根菌の菌株を単離し、現地での菌株保存機関に寄託する。

3. 研究の方法

(1) 調査地：スマトラマツに関しては、インドネシア・スマトラ島アチェ州の自然林 2カ所を対象とした。フタバガキに関しては、インドネシア・ボルネオ島東カリマンタン州の自然林および火災被害林を対象とした。タイ北西部においては、メルクシマツとケシアマツの造林地で調査を行った。

(2) 現地調査：それぞれの林分において、お

よそ 1 ha の範囲から 50、または 25 の土壌サンプルを採取（1 つの土壌サンプルは 5cm × 5cm × 深さ 10cm）した。

(3) サンプル処理：土壌サンプルから菌根を手作業で注意深く取り出したのち、実体顕微鏡下で形態的特徴を基に、形態タイプに分類した。それぞれの土壌サンプルの各菌根形態タイプから複数の菌根を採取し、個別に DNA の抽出を行った。

(4) DNA 解析：上記 DNA サンプル中に含まれる菌根菌の rDNA の ITS 領域を、菌特異的プライマーによって PCR 増幅し、ダイレクトシーケンスによって塩基配列を解読した。得られた塩基配列は 97% の相同性を用いてグルーピングした後、国際塩基配列データベース上の登録種と比較することで菌種の同定を行った。フタバガキ林で見つかった菌根については、樹種の特定のため、葉緑体 DNA の塩基配列のダイレクトシーケンスも行った。

(5) 埋土孢子：土壤中の埋土孢子を直接観察したり、DNA 抽出したりすることは不可能なため、バイオアッセイによって菌の釣り上げ試験を行った。これは宿主の実生を土壌サンプルに植え付けることで、埋土孢子の発芽を促し、苗に菌根を形成させる方法である。フタバガキ林土壌のバイオアッセイでは *Shorea selanica* の挿し木苗、および実生苗を用いた。スマトラマツ林土壌では、スマトラマツ実生苗（不足分をオーカルパマツで補植）を用いた。それぞれの苗に形成された菌根は、上記と同様の DNA 解析によって菌種を同定した。

(6) 得られた菌種のデータをもとに、菌根菌の多様性、推定種数、林分間の菌種組成の違いなどを統計解析した。また、検出された熱帯の菌根菌と類似する塩基配列を持った菌根菌をデータベース上で検索し、その地理的分布をもとに系統地理学的推論を行った。

4. 研究成果

(1) フタバガキ林から採取した土壌中に見られた成木の菌根からは、以前のプロジェクトによって約 80 種の菌根菌が同定されていた。その宿主樹木を同定したところ、フタバガキ科樹木に加えて、ブナ科樹木の菌根が多数含まれていることが明らかにされた。地上部の樹木の組成では僅かな比率しか占めないブナ科樹木が、地下部の菌根では優占種として出現することは予想外の発見である。また、フタバガキ科樹木とブナ科樹木の菌根菌の種組成は類似しており、多様性においても顕著な違いは見られなかった。このことから、両者は多くの菌根菌を共有していることが示唆される。

(2) フタバガキ林の埋土孢子からは約 30

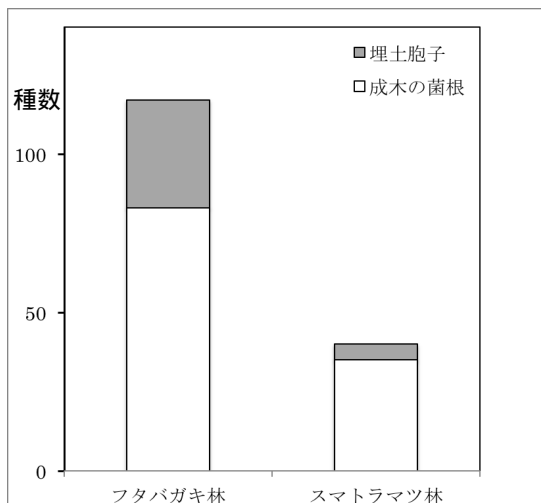


図1 フタバガキ林およびスマトラマツ自然林で見られた菌根菌の種数

種の菌根菌が検出された(図1)。その組成を見ると、ニセショウロ属やコツブタケ属など、成木の菌根ではほとんど見られなかった分類群が優占種として出現した。

(3) スマトラマツ自然林の成木の菌根からは約40種の菌根菌が同定された(図1)。また、同林分の埋土胞子からは5種の菌根菌が検出され、ヌメリグチ属やショウロ属など、いずれも成木の菌根には見られなかった菌種であった。これらの菌群は、温帯林のマツ林においても、埋土胞子の優占種として出現することが知られている。攪乱によって成木の菌根やその菌糸が死滅した際、埋土胞子形成種は樹木実生にいち早く感染し、その定着を促進する。熱帯のマツ林においても、ヌメリグチ属やショウロ属といった埋土胞子を形成する菌根菌が、攪乱後のマツ実生の定着を促進し、持続的な林業の実現に貢献できる可能性がある。

(4) 国際塩基配列データベース上に登録されたデータをもとに、フタバガキ林で見つかった菌根菌と同種、あるいは極めて近縁と思われる菌種を検索したところ、北半球の温帯域にはほとんど分布していないことが分かった。一方、同様の検索をスマトラマツ林の菌根菌で行ったところ、半数を超える菌種は中国南部のマツ林などで見つかった温帯域の菌種であることが分かった。こうした違いは、宿主樹木の生物地理の違いを反映しているものと考えられる。フタバガキ科は Gondwana 大陸に起源を持ち、インド亜大陸とともに熱帯アジアにわたってきたことが知られており、その菌根菌も Gondwana 起源の可能性がある。一方、マツ科は北半球温帯域に起源を持ち、同地域に多様性の中心があるが、氷期には熱帯域に多くの種が南下し、その遺存種がスマトラマツと考えられている。氷期にはスダランドという陸塊が形成され、スマトラ島はボルネオ島などとともにアジア

大陸と地続きになり、比較的最近まで(最終氷期が終わる約1万5千年前まで)、近縁なマツ属樹木間で菌根菌の共有が行われた可能性がある。

(5) 図1に示した菌根菌の種数は、フタバガキ林では約400の土壌サンプル、スマトラマツ林では100の土壌サンプル中に検出された総数である。同規模のサンプルを温帯林で調べた場合は遥かに多くの菌根菌が検出されることから、熱帯林の菌根菌の多様性は温帯林より低いものと考えられる。多様性指数や推定種数でも同様に温帯域の菌根菌の方が高かった。動物や植物では、熱帯域に多様性の中心があることはよく知られているが、菌根菌はこれらと異なる多様性分布を示すことから、その多様性の決定機構は学術的に興味深い。

(6) インドネシアのフタバガキ林、スマトラマツ自然林、タイのマツ人工林のいずれにおいても、成木の菌根ではイボタケ科やベニタケ科の菌根が優占していた。これらの科は温帯の様々な森林でも優占することが知られており、類似性が認められる。しかし、種レベルでみると、これらの異なる森林の間ではほとんど共通種が見られないなど、顕著な違いが見られた。温帯地域では、異なる森林からも種レベルで多数の共通種が見つかることが多いが、熱帯地域に見られる固有種の多さが何に起因するのかについては、今後更なる研究が必要である。

(7) フタバガキ林やスマトラマツ林の菌根菌の子実体や菌根から、菌株を多数単離した。本課題と並行して実施されていた SATREPS (JICA-JST) プロジェクトによって、インドネシアに国際標準の微生物資源センター(InaCC)が2015年に設立された。今回単離された菌根菌の中から、培地上での成長がよく、林業への応用が将来見込める菌株を10株選び、InaCCに寄託した。

<引用文献>

Smith SE, Read DJ (2008) Mycorrhizal Symbiosis, third edition. 787 pp., Academic Press., New York.

Nara K (2006) Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. New Phytologist 169: 169-178.

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 3件)

Miyamoto Y, Nara K (2015) Soil propagule banks of ectomycorrhizal fungi share many

common species along an elevational gradient. *Mycorrhiza* 26: 189-197.
DOI: 10.1007/s00572-015-0658-z

Miyamoto Y, Sakai A, Hattori M, Nara K (2015) Strong effect of climate on ectomycorrhizal fungal composition: evidence from range overlap between two mountains. *The ISME Journal* 9: 1870-1879.
doi: 10.1038/ismej.2015.8

奈良一秀 (2014) 木を育て、森を生み出す微生物「菌根菌」. *森林科学* 70: 31-34.
<http://www.forestry.jp/publish/ForSci/ForSci-index/ForSci70.html>

〔学会発表〕(計 5 件)

奈良一秀 (2016) 木を育て森を育む菌根菌：菌根共生の基礎から応用まで. 第 127 回日本森林学会大会 (日本大学, 神奈川県藤沢市, 3/27-30)

奈良一秀 (2015) インドネシアの熱帯林における外生菌根菌の多様性と群集構造. 第 30 回日本微生物生態学会大会. (土浦市亀城プラザ, 茨城県土浦市, 10/17-20)

Pham NDH, Nara K, Dang LAT, Vu TD, Vo TAD, Dang HQ, Koizumi T, Nguyen XD (2015) Ectomycorrhizal fungal community on an endemic five needle pine *Pinus dalatensis* in BiDoup-Nuiba National Park, Vietnam. *Asian Mycological Congress* (Goa Univ., India, October 7-10)

栗山 靖崇, 村田 政穂, Pilunthana Thapanapongworakul, Ampai Pornleesangsuwan, Somchai Nongnuang, Pongsak Chattecha, Worapoj Khambai, Ampan Bhromsiri, 奈良一秀, 松田陽介 (2015) タイ北西部のメルクシマツ人工林における外生菌根菌の群集構造. 第 5 回中部森林学会 (静岡大学, 静岡県静岡市, 10/4)

Sukarno N, Listiyowati S, Nara K (2015) New species of ectomycorrhiza *Elaphomyces* associated with dipterocarps tropical rain-forest from Indonesia. 8th International Conference on Mycorrhiza (Northern Arizona University, USA, August 3-7)

Sukarno N, Listiyowati S, Widyaningrum IK, Nara K (2015) Edible ectomycorrhizal mushroom associated with dipterocarps and fruit body production in tropical primary forest. International Workshop and Symposium on Mycology in Southeast Asia and the 9th TMA Conference (Khon Kaen, Thailand, July 27-29)

栗山 靖崇, 村田 政穂, Pilunthana

Thapanapongworakul, Ampai Pornleesangsuwan, Somchai Nongnuang, Pongsak Chattecha, Worapoj Khambai, Ampan Bhromsiri, 奈良一秀, 松田陽介 (2015) タイ北西部の熱帯性マツ属 2 種に共生する外生菌根菌の群集構造. 日本菌学会第 59 回大会 (てんぶす那覇, 沖縄県那覇市, 5/15-16)

Sukarno N, Listiyowati S, Suharsono UW, Tasuruni D, Nara K (2014) Indonesian edible ectomycorrhizal *Heimioporus* sp. and *Cantharellus* sp. associated with *Tristaniospiza merguensis* and *Shorea* spp. 9th International Mycological Congress (IMC10) (Bangkok, Thailand, August 3-8)

〔図書〕(計 2 件)

Nara K (2015) The role of ectomycorrhizal networks in seedling establishment and primary succession. In: *Mycorrhizal Network, Ecological studies series*, Tom Horton ed., Springer, New York. pp.177-201.

奈良一秀 (2014) 菌根：地面の下の隠れた主役. In *教養としての森林学*. 井出他編. 文英堂出版. pp. 227-228.

〔その他〕

ホームページ等

http://www.edu.k.u-tokyo.ac.jp/nara_lab

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奈良一秀 (Nara, Kazuhide)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：60270899

(2) 研究分担者

松田陽介 (MATSUDA, Yosuke)

三重大学・生物資源学研究所・教授

研究者番号：30324552