

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2013～2016

課題番号：25304026

研究課題名(和文) 東アジアの森林を支える菌根菌ネットワークの生態系機能の解明

研究課題名(英文) Forest ecosystem functioning of common mycorrhizal network in east Asia

## 研究代表者

松田 陽介 (Matsuda, Yosuke)

三重大学・生物資源学研究科・教授

研究者番号：30324552

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：多様な森林生態系の薄暗い林床に生育する植物の生存戦略を地下部の菌根共生系の観点から明らかにすることを目的として、東アジアに遍在するツツジ科のイチヤクソウを対象に菌根共生の実態を調べた。イチヤクソウを日本、韓国、台湾から採取し、その根系の遺伝子解析をすると、周辺樹木に共生する菌根菌ベニタケ科が優占していた。以上より、林床に生育する植物は樹木と共通の共生菌を根に保持することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this project was to clarify the survival strategy of plants living on the dark forest floor at various forest ecosystems in terms of the underground view of mycorrhizal associations. For this aim, I focused on *Pyrola japonica* (Ericaceae) that distributes ubiquitously in east Asia. I collected the plants from Japan, Korea and Taiwan, and genetic analysis of the root system was carried out. In the rootsystem, members of Russulaceae that are known to be ectomycorrhizal fungi associating with woody plants taxa. These results suggest that the plants growing on the forest floor retain similar mycorrhizal fungal taxa that are in common with the trees.

研究分野：森林微生物学

キーワード：菌根共生 森林生態系 混合栄養 ツツジ科

### 1. 研究開始当初の背景

陸上植物の 80% の根には菌根菌と呼ばれる共生菌が定着している。この菌根菌は、一度に複数の宿主植物の根に定着し、共生関係を結ぶことから土の中で「菌根菌ネットワーク」を構築し、この中を光合成産物が移動すると示唆されている。栄養を奪い合う中で適応進化したと考えられてきた植物同士が、地下部では菌の助けを借りて資源を共有する仕組みは、生態系の安定的な維持基盤の理解に重要な視点である。この作用系には、絶滅に瀕する植物も多く関わっており、機構の解明は生物多様性の観点のみならず、希少植物の維持、保全に寄与する点からも注目されている。

### 2. 研究の目的

本研究では、多様な森林生態系の林床に生育する植物の生存戦略を地下部の菌根共生系の観点から明らかにすることを目的とする。そのため、東アジアに遍在するイチヤクソウを対象にこの植物における菌根共生の実態を調べた。そのため、韓国と日本、中国、台湾をフィールドとして調査を進めた。現在、海外のデータを解析中であり、ここでは国内で得られた成果の一部を示す。

### 3. 研究の方法

調査はイチヤクソウが生育する愛知県 (A1-A3)、三重県 (M1-M4)、京都府 (K1) で行った。調査許可の下、3 地域 8 調査地から合計で 39 個体 (2012 年に 18 個体、2013 年に 21 個体) 採取した。林相はアラカシとアカマツの針広混交林、コナラ、クヌギの落葉広葉樹林、ツブラジイ、スタジイの常緑広葉樹林である。各個体を 15 × 15 × 15 cm の土壌ブロックとして掘り起こし、観察まで 5 度で保存した。採取した土壌から丁寧にイチヤクソウ根系を取り出し、実体顕微鏡で菌根形成の有無を観察した。イチヤクソウの根には菌鞘という菌糸の覆いが認められないので、菌根は根の表皮細胞に形成された菌球

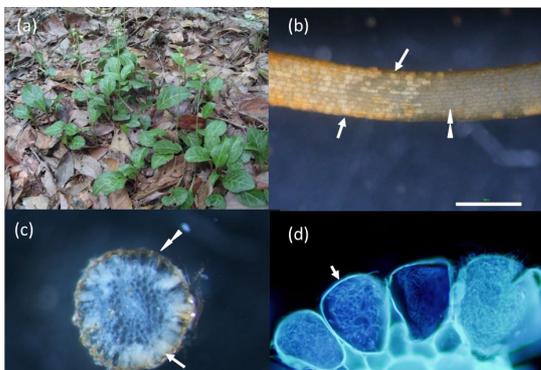


図 1 (a) イチヤクソウの生育地 (京都) の様子、(b) 根系の 1 断片、(c) 光学顕微鏡による横断面、(d) 蛍光顕微鏡による横断面。いずれも、矢印は菌糸コイル、二重矢じりは菌糸コイルのない細胞を示す。バーは (b)、(c) は 1 mm、(d) は 100 μm を示す。

を手がかりに菌根菌の感染が認められたものとした (図 1)。菌根部分はその後の DNA 解析のために -80 で保存した。イチヤクソウの周辺に分布する樹木根に共生する菌根菌も調べるため、愛知の 6 サンプルについては土壌ブロックから外生菌根を採取し、-80 で保存した。保存したイチヤクソウの根と周辺の樹木の根からゲノム DNA を抽出し、菌類の種同定に用いられる核リボソーム DNA の internal transcribed spacer (ITS) 領域の塩基配列を決定した。その際、イチヤクソウではクローニング法を、外生菌根ではダイレクトシークエンス法を用いた。解読に成功した配列は BLAST 解析により種の推定を行った。

### 4. 研究成果

#### 4 - 1. 検出された菌根菌

イチヤクソウの根から全体で 1512 配列を得て、配列情報の類似性 (97%) にもとづいて 51 種類の操作的分類群 (以下、MOTU) に大別された。そのうち樹木の根に外生菌根を形成する菌は 36 分類群 (全配列の 96%) であった。分類群の内訳として、ベニタケ属が 17MOTU であり、全配列の 76.2% を占めた (図 2)。豊富さで 4 位であったキツネタケ属をのぞき、上位 11 位まではベニタケ属によって占められた。一方、愛知で採取したイチヤクソウ 6 個体の周辺に由来する外生菌根から 137 配列を得て、それらは 33MOTU に大別された。そのうち、優占した上位 3 分類群はベニタケ属 (42.3%)、ピョウタケ目 (15.3%)、フウセンタケ属 (10.9%) であった。したがって、イチヤクソウとその周辺の樹木には、ベニタケ属が優占して定着するものと考えられた。

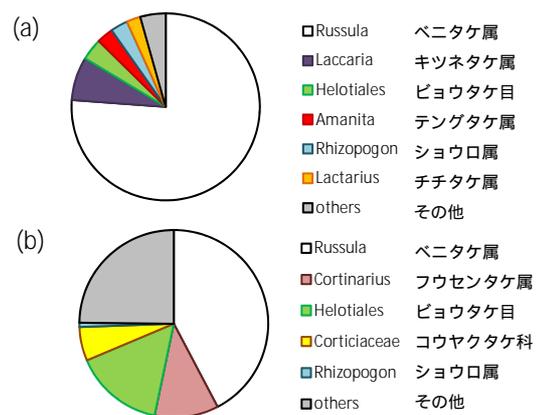


図 2 イチヤクソウと樹木の菌根から検出された菌根菌の出現頻度。

(a) 3 地域、35 個体、1512 クローンに由来するイチヤクソウ、(b) 愛知のイチヤクソウ 6 個体を採取した土壌中に含まれていた外生菌根の 137 配列。

#### 4 - 2. イチヤクソウ周囲の菌根群集

外生菌根を調べた 6 土壌ブロックにおける樹木の外生菌根のサンプルエフォート (n=137) はイチヤクソウのもの (n=369) より低かつ

たが、希薄化曲線による菌根菌の多様性は外生菌根から 15MOTU 検出され、イチヤクソウから検出された 5MOTU より高い傾向にあった(図 3)。したがって、イチヤクソウにかかわる菌根菌は周辺樹木のものより低い、特異性が高いことを意味するのかもしれない。

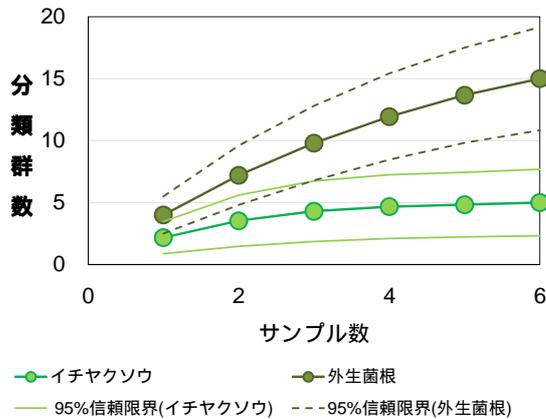


図 3 イチヤクソウとその周辺に分布した外生菌根から検出された菌根菌の希薄化曲線。

土壌ブロック単位では、樹木の外生菌根とイチヤクソウの菌根から検出された 47MOTU 中 6MOTU が両者から検出された(図 4)。共有する MOTU はイチヤクソウで解析したサンプルの 35.8% (132/369 クローン)であり、樹木の外生菌根では 26.3% (36/137 配列)であった。3MOTU はベニタケ属に所属しており解析したイチヤクソウのクローンの 35.6% (47/132 クローン)を占め、残りの 3MOTU はショウロ属、オニイグチ属、ビョウタケ目であった(64.4%, 85/132 クローン)。イチヤクソウと樹木の外生菌根で検出された MOTU 組成は有意に異なっていた(図 4;  $p < 0.001$ )。イチヤクソウと樹木の外生菌根で最優占したのは、それぞれ *Russula violeipes* 1, *Russula* sp.1 であり、その出現頻度は両者の間で有意に異なっていた( $p < 0.001$ )。

周辺樹木の外生菌根よりイチヤクソウにかかわる菌根菌の多様性が低だけでなく(図 3)、両者の群集構造が明瞭に異なっていたことは、イチヤクソウが周辺の樹木と共生する菌根菌の中から特定の仲間と選好的な関係にあることを示唆するかもしれない。この点において、イチヤクソウ全体としてベニタケ属菌が優占したことを踏まえると、本属菌は森林生態系でよく見られる分類群であることから、遍在する菌群と共生関係にあるのかもしれない。樹木に遍在して共生する菌根菌と地下部の菌根菌の菌糸を介してつながることで、イチヤクソウは暗い林床環境において不足しがちな光合成に由来する炭素源の一端を共生菌のものに依存する混合栄養性の栄養獲得を可能としているのかもしれない(Matsuda et al. 2012)。今後、東アジア地

域で調査した成果も踏まえ、イチヤクソウの菌根群集の全容と、本種の林床環境で生き抜く戦略について調べていく。

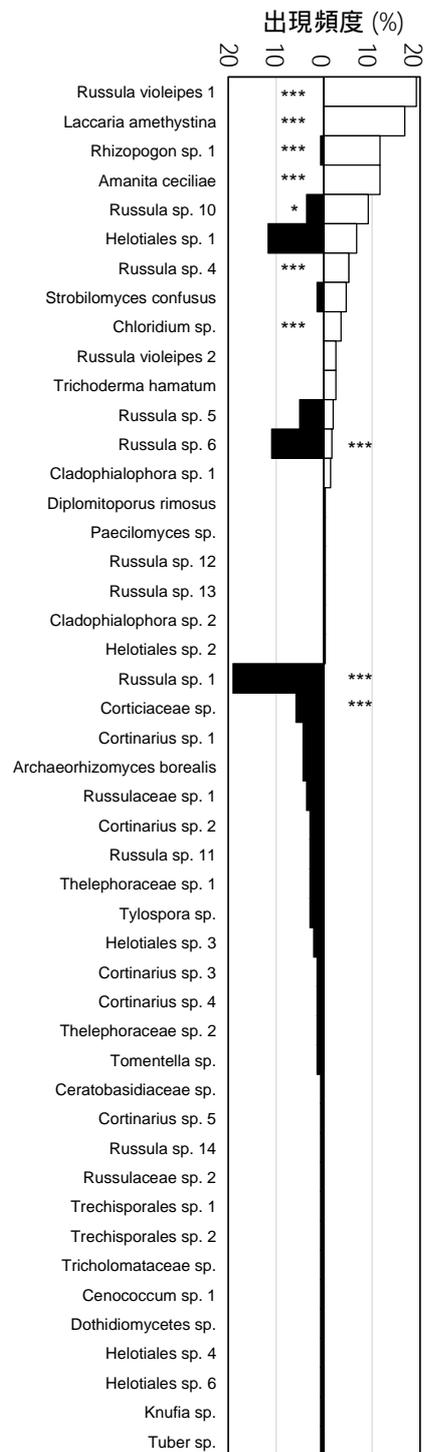


図 4 イチヤクソウ(□)とその周辺に分布した樹木(■)から検出された菌根菌の出現頻度。イチヤクソウは 369 クローン、外生菌根は 137 根端を供試した。一部の MOTU については、イチヤクソウと樹木の間で菌根菌の出現頻度に有意差が見られた(Fisher の正確確率検定, \*:  $p < 0.05$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ )。

< 引用文献 >

Matsuda Y, Shimizu S, Mori M, Ito S, Selosse

MA (2012) Seasonal and environmental changes of mycorrhizal associations and heterotrophy levels in mixotrophic *Pyrola japonica* growing under different light environments. *American Journal of Botany* 99: 1177-1188

#### 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)

Uesugi T, Nakano M, Selosse MA, Obase K, Matsuda Y (2016) *Pyrola japonica*, a partially mycoheterotrophic Ericaceae, has mycorrhizal preference for russulacean fungi in central Japan. *Mycorrhiza* 26: 819-829, doi: 10.1007/s00572-016-0715-2, 査読有

Lallemand F, Gaudeul M, Lambourdière J, Matsuda Y, Hashimoto Y, Selosse MA (2016) The elusive predisposition to mycoheterotrophy in Ericaceae. *New Phytologist* 212: 314-319, doi: 10.1111/nph.14092, 査読有

Obase K, Matsuda Y (2014) Culturable fungal endophytes in roots of *Enkianthus campanulatus* (Ericaceae). *Mycorrhiza* 24: 635-644, doi: 10.1007/s00572-014-0584-5, 査読有

##### [学会発表](計12件)

上杉天志・中野美穂・Marc-André Selosse・小長谷啓介・松田陽介 (2017) ツツジ科植物イチヤクソウは菌根菌のベニタケ科に特異性を示すか。第64回日本生態学会, 早稲田大学(東京都新宿区), 2017年3月15-18日

上杉天志・陳建帆・松田陽介 (2016) ツツジ科植物ニイタカイチヤクソウに関する菌根菌。日本菌学会60周年記念大会, 京都大学農学部(京都市), 2016年9月17, 18日

松田陽介 (2016) 豊かな森が育む林床植物の菌根共生。第127回日本森林学会大会, 日本大学(藤沢市) 2016年3月27-29日

Matsuda Y, Uesugi T, Chen C-F, Huh MK, Tanikawa T, Hashimoto Y, Yagame T, Selosse M-A, Murata M, Nara K (2015) Mycorrhizal specificity of the partially mycoheterotrophic Ericaceae *Pyrola japonica* (Ericaceae). Eighth International Conference on Mycorrhiza (ICOM8). Flagstaff (USA), August 3-8, 2015

Uesugi T, Nakano M, Obase K, Ito S, Matsuda Y (2014) Polyphyletic members of *Russula* are dominant mycorrhizal fungi in roots of a partially mycotrophic plant, *Pyrola japonica* (Ericaceae). The 10th International Mycological Congress

(IMC10), Bangkok (Thailand), 4-8 August, 2014

[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.bio.mie-u.ac.jp/junkan/busshitsu/lab2/matsuda.htm>

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

松田 陽介 (MATSUDA Yosuke)  
三重大学・大学院生物資源学研究所・教授  
研究者番号: 30324552

##### (2)研究分担者

木佐貴博光 (KISANUKI Hiromitsu)  
三重大学・大学院生物資源学研究所・教授  
研究者番号: 00251421

谷川東子 (TANIKAWA Toko)  
国立研究開発法人森林総合研究所・関西支所・研究員  
研究者番号: 10353765

奈良一秀 (NARA Kazuhide)  
東京大学・新領域創成科学研究科・教授  
研究者番号: 60270899