

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 8 月 8 日現在

機関番号：17201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18597

研究課題名(和文)植物の菌根菌遷移への適応戦略とその進化過程の解明

研究課題名(英文)An adaptive strategy to succession of mycorrhizal fungi in mycoheterotrophic plants

研究代表者

辻田 有紀(Ogura-Tsujita, Yuki)

佐賀大学・農学部・准教授

研究者番号：80522523

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、世界で最も大きな菌従属栄養植物の1つであるラン科タカツランが、多様な木材腐朽菌と共生していることをDNA解析、in vitro培養および安定同位体比解析の3つのツールを用いて多角的に解明し、陸上植物の菌根共生系において、木材腐朽菌と共生するジェネラリストの存在を実証することに初めて成功した。

研究成果の概要(英文)：This study is the first to demonstrate that the largest mycoheterotroph, *Erythorchis altissima*, is associated with a wide range of wood decaying fungi by combining molecular, in vitro culture and mass-spectrometric approaches. This study provides the first example of a mycorrhizal generalist that targets diverse lineages of WD fungi.

研究分野：菌根共生、系統分類

キーワード：菌根共生 菌従属栄養 ラン科 木材腐朽菌 安定同位体比

### 1. 研究開始当初の背景

固着生活を営む植物は、共生する菌根菌の遷移にどのように適応してきたのだろうか。多くの菌類は、遷移や季節変動によって植物より早いスピードで消失と出現を繰り返す。そのため、植物は共生者であるこれら菌類の遷移に対応し続けなければならない。特に、菌従属栄養植物は、生育に必須である有機炭素の供給をすべて菌根菌に依存しているため、菌根菌パートナーが遷移とともに消失すると、植物は致命的な影響を被る。

菌従属栄養植物が菌の消長に適応する戦略には、1) できるだけ多様な菌類と共生関係を構築し、植物体周辺に出現する菌類とジェネラルに共生することで菌の消長に対応する(ジェネラリスト)、2) 遷移の中で比較的安定した菌類と特異的に共生関係を構築する(スペシャリスト)、という大きく2つの仮説が考えられる。陸上植物の菌根共生は前者が一般的であり、菌従属栄養植物においても一見ジェネラリストの方が適応的であるように見える。しかし、これまで報告された多くの菌従属栄養植物はスペシャリストであり、ジェネラリストの事例はごく一部の分類群に限られる。

### 2. 研究の目的

ラン科タカツルランは、世界で最も大きな菌従属栄養植物の1つで、共生培養試験の結果から、多様な木材腐朽菌と共生することが予想されている(引用文献)。木材腐朽菌と共生するジェネラリストは、これまで菌従属栄養植物をはじめ陸上植物では知られておらず、新規の菌根共生パターンである。そこで本研究では、タカツルランの菌根共生を、DNA解析、in vitro 培養および安定同位体比解析の3つのツールを用いて多角的に解明し、新規の菌根共生パターンを実証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

1) 菌根菌の分子同定: 鹿児島県と沖縄県より6集団25個体から根を採取し、DNAを抽出して菌のITS領域の塩基配列を決定し、菌根菌の種類を特定した。

2) in vitro における共生培養: 1) で見つかった多くの菌は、これまで菌根菌として報告されたことのない種類であり、これらが真に菌根菌であることを証明するためには、試験管内で菌と植物の2者培養を行い、菌根を形成するかどうかを確認する必要がある。そこで、一部の菌根菌は根より菌糸を取り出して培養し、試験管内でタカツルランの種子とともに培養した。

3) 安定同位体比の測定: 安定同位体比を測定することで、特定の生物の栄養源を推定することができる。そこで、炭素と窒素の安定同位体比を測定し、タカツルランが本当に木材腐朽菌から栄養を受けているかどうかを検証した。

### 4. 研究成果

1) 菌根菌の分子同定: タカツルランの根より7目35種類の担子菌を検出した。これらの菌は主として木材腐朽菌で、ほとんどは菌根菌として植物から初めて検出された。タカツルランは半着生植物で、地下の根系より地上へつるを伸ばし、樹木に着生することから、地上と地下の両方に根をもつ。そこで、地上と地下の菌相を比較したところ、両方から木材腐朽菌が検出され、さらに地下からは外生菌根菌のベニタケ科も検出された。以上の結果から、タカツルランは主として多様な木材腐朽菌と共生し、菌根菌に対する特異性が非常に低いことが明らかになった。また、一部の個体は地下で外生菌根菌とも共生していると考えられる。

2) in vitro における共生培養: 根より単離した菌根菌5系統について2者培養を行ったところ、2系統が種子発芽とその後の実生の生育を誘導した。実生は菌根を形成しており、これらの根からは接種したものと同一菌種が検出された。このことから、これら2系統の菌については、タカツルランの種子発芽とその後の生育を誘導する菌根菌であることが証明できた。

3) 安定同位体比の測定: 種子島の1集団より5個体を採取し、炭素と窒素の安定同位体比を分析した。タカツルランと木材腐朽菌および外生菌根菌の子実体の同位体比を比較したところ、5個体中4個体は木材腐朽菌に非常に近い値を示した。このことから、タカツルランは主として木材腐朽菌から栄養を得ていることを実証した。一方で、残りの1個体は木材腐朽菌と外生菌根菌の中間の値を示したことから、一部の個体は木材腐朽菌と外生菌根菌の両方から栄養を得ている可能性があるが、今後さらに反復が必要である。(結論)本研究は、菌従属栄養植物タカツルランが、多様な木材腐朽菌と共生していることを様々なツールを用いて多角的に証明し、陸上植物の菌根共生系において、木材腐朽菌と共生するジェネラリストの存在を実証することに初めて成功した。多くの菌従属栄養植物は、外生菌根菌やアーバスキュラー菌根菌と特異的に共生しており、土壤中に広がる菌根ネットワークを介して有機炭素をえているが(引用文献)、タカツルランは森林バイオマスの主要構成要素である枯死木を巡る炭素循環から有機炭素を獲得していると考えられる。また、この特異な菌根共生は、タカツルランが菌根菌の遷移へ対応しながら複数年生きながらえることを可能とし、さらに本種のように大型の菌従属栄養植物が進化したカギとなった可能性がある。

### <引用文献>

Umata H. 1995. Seed germination of *Galeola altissima*, an achlorophyllous orchid, with apylophorales fungi. *Mycoscience* 36:

369-372

Umata H. 1998a. *In vitro* symbiotic association of an achlorophyllous orchid, *Erythrorchis ochobiensis*, with orchid and non-orchid fungi. *Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University* 34: 97-107

Merckx VSFT. 2013. Mycoheterotrophy: an introduction. In Merckx VSFT, ed. *Mycoheterotrophy: the biology of plants living on fungi*. Berlin, Germany: Springer Verlag, 19-101

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

T. Yagame, Y. Ogura-Tsujita, A. Kinoshita, K. Iwase, T. Yukawa, 2016年, Fungal partner shifts during the evolution of mycoheterotrophy in *Neottia*. *American Journal of Botany*, 103: 1630-1641, 査読有. DOI: 10.3732/ajb.1600063

Y. Sakamoto, Y. Ogura-Tsujita, K. Ito, K. Suetsugu, J. Yokoyama, J. Yamazaki, T. Yukawa, M. Maki, 2016年, The tiny-leaved orchid *Cephalanthera subaphylla* obtains most of its carbon via mycoheterotrophy. *Journal of Plant Research*, 129: 1013-1020, 査読有. DOI:10.1007/s10265-016-0856-6

A. Kinoshita, Y. Ogura-Tsujita, H. Umata, H. Sato, T. Hashimoto, T. Yukawa, 2015年, How do fungal partners affect the evolution and habitat preferences of mycoheterotrophic plants? A case study in *Gastrodia*. *American Journal of Botany*, 103: 207-220, 査読有. DOI:10.3732/ajb.1500082

Y. Ogura-Tsujita, H. Hirayama, A. Sakoda, A. Suzuki, A. Ebihara, N. Morita, R. Imaichi, 2015年, Arbuscular mycorrhizal colonization in field-collected terrestrial cordate gametophytes of pre-polypod leptosporangiate ferns (Osmundaceae, Gleicheniaceae, Plagiogyriaceae, Cyatheaceae). *Mycorrhiza*, 18: 331-338, 査読有. DOI:10.1007/s00572-015-0648-1

Y. Sakamoto, J. Yamazaki, T. Yamada, J. Yokoyama, Y. Ogura-Tsujita, M. Maki, 2015年, The diversity of mycorrhizal fungi in Japanese *Cephalanthera* species. *Plant Species Biology*, 32: 81-86, 査読有. DOI:10.1111/1442-1984.12124

〔学会発表〕(計22件)

辻田有紀・徐慧・深澤遊・手塚賢至・馬田英隆・牧雅之・遊川知久・世界最大の菌従属栄養植物タカツルランの菌根共生パターンの解明. 2016年度菌根研究会大会. 2016年12月10日. 千葉大学

辻田有紀・世界最大の菌従属栄養植物タカツルランの謎に迫る. 屋久島学ソサエティ第4回大会. 2016年11月25-27

日. 鹿児島県屋久島町

Y. Ogura-Tsujita, K. Suzuki, T. Yukawa. Conservation by *in situ* seed germination techniques: a case for wild orchids of Japan. 11th International Symposium on Diversity and Conservation of Asian Orchids. 2015年12月16-17日. 韓国

辻田有紀・前田綾子・遊川知久. ラン科ムカゴサイシンにおける菌根菌の感染状況とそのフェノロジー. 日本植物学会第79回大会. 2015年9月6-8日. 朱鷺メッセ(新潟県新潟市)

辻田有紀・深澤遊・馬田英隆・遊川知久. 菌従属栄養植物タカツルランの菌根菌の特性評価: 菌根菌の木材分解能力および種子発芽誘導能力の評価. 日本菌学会第59回大会. 2015年16-18日. 那覇市ぶんかテンブス館(沖縄県那覇市)

〔図書〕(計2件)

辻田有紀(分著). 世界最大! 光合成をしない植物タカツルランの謎. 沖縄市郷土博物館. 沖縄市の自然 やんばるの入口. P76-81. 2016年

辻田有紀(分著). ランの多様性を育む菌類. 日本菌学会編. 東海大学出版部. 驚きの菌ワールド. p32-33. 2017年

〔産業財産権〕

なし

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻田有紀(OGURA-TSUJITA, Yuki)

佐賀大学・農学部・准教授

研究者番号: 80522523

(2) 研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

手塚賢至 (TETSUKA, Kenshi)

深澤遊 (FUKASAWA, Yu)

馬田英隆 (UMATA, Hidetaka)

GEBAUDER, Gerhard

遊川知久 (YUKAWA, Tomohisa)