

令和 4 年 5 月 27 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：2016～2020

課題番号：16H02759

研究課題名(和文) 東南アジアの森林回復を支える菌根菌の探索

研究課題名(英文) Exploring mycorrhizal fungi helping forest regeneration in Southeast Asia

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・教授

研究者番号：60270899

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 30,800,000円

研究成果の概要(和文)：東南アジアの攪乱地に自然更新するフトモモ科Tristaniopsis属樹木の外生菌根菌をインドネシアのバンカ島とカリマンタン島で調べた。検出された外生菌根菌のほとんどはこれまで検出されたことのない新種の可能性が高いことが判明した。また、カリマンタン島の調査地では、Tristaniopsis属樹木に混じってフタバガキ科樹木が自然定着していること、両樹種で多くの菌根菌を共有していることが判明した。攪乱地で極相樹種であるフタバガキ樹木が自然定着することは珍しく、先駆樹木であるTristaniopsisがフタバガキの実生に共生微生物である外生菌根菌を提供することで更新を促進している可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

東南アジアのフタバガキ林は生物多様性の高い森林として知られるものの、その多くは伐採や農地転用によって消失し、再生が望まれている。フタバガキ樹木は外生菌根菌という土壤微生物と共生することで生きることから、共生可能な外生菌根菌がその場所に存在するかどうかフタバガキ樹木の定着に大きく影響すると考えられる。本研究によって攪乱地でも更新可能なフトモモ科の先駆樹木はフタバガキと共通する多くの外生菌根菌を有していることが判明したため、これを利用することでこれまで困難とされていたフタバガキ林の再生が実現できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Ectomycorrhizal (ECM) fungi colonizing Tristaniopsis (Myrtaceae), which is a pioneer tree genus observed in some disturbed areas in Southeast Asia, were studied in Bangka and Kalimantan Islands, Indonesia. Most of the ECM fungi detected had no previous records in the international DNA databases, indicating the existence of many new species. At the research sites in Kalimantan Island, we found many ECM root tips of Dipterocarpaceae trees, which shared many ECM fungi with Tristaniopsis. Because climax species like Dipterocarpaceae rarely regenerate in disturbed sites, Tristaniopsis trees may be able to help the regeneration of Dipterocarpaceae by providing compatible ECM fungi.

研究分野：森林微生物学

キーワード：熱帯林 東南アジア 菌根菌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) マツ科やブナ科、ヤナギ科などの温帯林の優占樹木、フタバガキ科やフトモモ科などの熱帯林の主要樹木は、キノコをつくる担子菌類などと外生菌根共生をしている。この共生関係は樹木と外生菌根菌の双方の生存にとって不可欠なものであることが知られている。

(2) 東南アジアでは、世界的な木材資源の需要の高まりを受けて、急速に森林（主にフタバガキ林）の商業伐採が進んだ。さらに、非伝統的焼畑、人口増加、農地化なども影響し、森林資源の減少と劣化が極めて深刻である。

(3) フタバガキ林が伐採や火災などによって攪乱を受けた場合、まずオオバギ属（*Macaranga*）等の樹木に置き換わる。このような樹木のほとんどは外生菌根菌ではなく、アーバスキュラー菌根菌と共生する樹木である。一般的に攪乱後のフタバガキ林再生は困難だが、このような菌根菌の変化の影響については分かっていない。

(4) 温帯林での研究から、成熟した森林と攪乱から回復過程にある二次林では外生菌根菌の組成が大きく異なることが分かっている。また、荒廃地に極相樹種が最初に定着することはなく、外生菌根性の先駆樹木がまず定着し、そこに共生する外生菌根菌の菌糸体や埋土胞子によって極相樹種の定着が促進される。このことから、熱帯地域においても同様に、外生菌根性の先駆樹種に共生する外生菌根菌がフタバガキの実生定着とフタバガキ林再生の鍵を握る可能性がある。

### 2. 研究の目的

(1) フトモモ科はアーバスキュラー菌根菌と共生する系統とは別に外生菌根菌と共生する系統も存在する（ユーカリ属など）。東南アジアの攪乱地ではフトモモ科の *Tristaniopsis* 属が優占する二次林が存在していることから、まずは *Tristaniopsis* が外生菌根菌と共生しているのかどうかを明らかにする。また、外生菌根菌と共生している場合はどのような菌種がいるのかを塩基配列情報をもとに明らかにする。

(2) ベトナム等の他地域においても、外生菌根菌と共生する可能性のある先駆樹木を対象に、どのような外生菌根菌が定着しているのかを明らかにする。

(3) これまでにデータが得られているフタバガキ林の菌根菌群集データと比較し、どの程度の外生菌根菌が先駆樹木とフタバガキ科樹木で共通しているかを明らかにする。また、外生菌根菌の群集がどのような要因（宿主、気候、地理）によって影響されるのかについて明らかにする。

(4) 熱帯の外生菌根菌の分類学的研究を進める。

### 3. 研究の方法

(1) 調査対象地はインドネシアのバンカ島およびカリマンタン島の二次林でいずれも *Tristaniopsis* 属樹木が優占する森林とした（図1）。また、ベトナムのブナ科やマツ科が優占する二次林でも試験的な調査を行った。



図1 外生菌根菌の調査を行ったバンカ島（黒四角）およびカリマンタン島（赤四角）の *Tristaniopsis* 樹木が優占する二次林の対象範囲

(2) 菌根菌の多くは子実体（キノコ）を形成する能力があるものの、その発生は環境条件に左右

されやすく、極めて短期間かつ不定期である。このため、子実体調査では森林に生息する菌根菌のごく一部しか検出できない。一方、土壤中の菌根は1年を通して存在するため、定量的サンプリングに適している。そこで本研究では、各調査地から土壌サンプル(250 cm<sup>3</sup>)を約30ずつ採取し、その中の菌根のDNA解析によって菌根菌種を同定した。

(3) DNA解析では、菌根からDNAを抽出、菌特異的プライマーによってrDNAのITS(Internal Transcribed Spacer)領域をPCR増幅し、ダイレクトシーケンスを行った。得られた塩基配列は97%の相同性によってOTU(Operational Taxonomic Unit)にまとめたのち、データベース上の情報を比較することにより菌種の同定を行った。各菌根の宿主樹種については、同じDNAサンプルを利用し、葉緑体DNAの塩基配列を同様の手法によって解析することで同定した。

(4) 菌類の新種記載や分類学的研究には子実体標本が不可欠な材料であり、現地調査では子実体の網羅的な収集も行った。一部の子実体からは菌株の分離も行った。収集された標本と菌株は現地国で保管した。

#### 4. 研究成果

(1) *Tristaniopsis* 属樹木が優占するバンカ島の4つの林分、およびカリマンタン島の5つの林分において現地調査を行い、いずれの場所においても *Tristaniopsis* 樹木が外生菌根菌と共生していることが明らかとなった。

(2) これら9つの *Tristaniopsis* 優占林分から250の土壌サンプルを採取し、そこに含まれる細根を調べた結果、186の土壌サンプルから外生菌根を検出した。これら菌根を形態分類したのち、1750の菌根をDNA解析した結果、合計で127種の外生菌根菌が同定された。特にイボタケ科(*Thelephoraceae*)やベニタケ科(*Russulaceae*)、イグチ科(*Boletaceae*)の菌種が多かった。

(3) 見つかった菌種のうち、81種は1つの土壌サンプルからしか検出されなかった。一方、イボタケ科の1種(*Thelephoraceae* sp.1)は39の異なる土壌サンプルから検出され、ベニタケ科の1種(*Russulaceae* sp.1)も29の土壌サンプルから検出されるなど、普遍的に分布する菌種も確認された。ジャックナイフ方による推定種数では、少なくとも145種が調査した森林には生息していると推定された。

(4) 菌根サンプルの葉緑体DNAを解析した結果、同定された樹木のほとんどはフトモモ科であったことから、*Tristaniopsis* 以外の外生菌根樹木はあまり定着していないものと推定された。一方、カリマンタン島の同定された樹木には、フトモモ科以外にも、フタバガキ科やブナ科、マメ科なども多く検出されたことから、これらの樹木も自然定着していることが明らかとなった。

(5) カリマンタン島の外生菌根菌群集をフトモモ科とフタバガキ科で比較した結果、両者の群集に有意な違いは認められなかった。出現頻度が高かった(5つ以上の土壌サンプルから検出された菌種)の全てがフトモモ科とフタバガキ科の両方に共生していたことから、両樹種は多くの外生菌根菌を共有できることが判明した。スズ鉱山開発の影響などでバンカ島内にはフタバガキ科の残存林はほとんどなく、種子の供給源がないためフタバガキ樹木の自然回復は望めないものの、カリマンタン島で *Tristaniopsis* 樹木が更新している環境下では、共生可能な外生菌根菌をフタバガキ樹木に提供できるため、フタバガキ樹木の自然定着を促進できる可能性があると考えられる。

(5) *Tristaniopsis* 林で見つかった菌種の塩基配列のほとんどは国際塩基配列データベース上に登録のないものであり、新種である可能性が高い。ITS領域97%の相同性に基づくと、これまでに検出された菌種は127種のうち10種のみであった。そのうち8種はマレーシア・ランピル国立公園のフタバガキ林で検出されたものであった。一方、研究期間中に発表されたニューカレドニア島の *Tristaniopsis* 樹木の菌根菌、およびオーストラリアのフトモモ科樹木(ユーカリ属)との共通種は全くなかった。このことから、東南アジアの *Tristaniopsis* 林で検出された外生菌根菌群集は樹種よりも生物地理学的な要因の影響をより強く受けているものと考えられた。

(6) インドネシアの現地調査で発見した外生菌根菌ツチダンゴ属(*Elaphomyces*)の子実体の形態観察と分子系統解析の結果、新種として発表した。インドネシアとベトナムで採取した数多くの子実体標本は現地カウンターパートのもとで保管しており、今後の分類学的研究に利用予定である。

(7) ベトナムの攪乱地に更新しているマツの実生にはショウロ属(*Rhizopogon*)やアマタケ属(*Suillus*)の外生菌根菌が共生していることが明らかとなった。これらの菌種は宿主特異性が高く、フタバガキ等の他の樹木とは共生しないと推定され、フタバガキ林再生への利用については難しいと考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 1件）

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Helbert, Turjaman M, Nara K  | 4. 巻<br>14              |
| 2. 論文標題<br>Ectomycorrhizal fungal communities of secondary tropical forests dominated by <i>Tristaniopsis</i> in Bangka Island, Indonesia  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Plos One   | 6. 最初と最後の頁<br>e0221998  |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1371/journal.pone.0221998   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>該当する            |
| 1. 著者名<br>Miyamoto Y, Maximov TC, Sugimoto A, Nara K   | 4. 巻<br>60              |
| 2. 論文標題<br>Discovery of <i>Rhizopogon</i> associated with <i>Larix</i> from northeastern Siberia: insights into host shift of ectomycorrhizal fungi                                  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Mycoscience  | 6. 最初と最後の頁<br>274-280   |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.myc.2019.03.003  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>該当する            |
| 1. 著者名<br>Sukarno N, Listiyowati S, Rahayu N, Nara K   | 4. 巻<br>60              |
| 2. 論文標題<br><i>Elaphomyces tropicalis</i> sp. nov.: A new ectomycorrhizal fungus associated with dipterocarps from tropical Indonesia   | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Mycoscience  | 6. 最初と最後の頁<br>83-88     |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.myc.2018.12.004  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>該当する            |
| 1. 著者名<br>Sene S, Selosse MA, Forget M, Lambourdiere J, Cisse K; K, Diedhiou AG, Rivera-Ocasio E, Kodja H, Kameyama N, Nara K, Vincenot L, Mansot JL, Weber J, Roy M, Sylla SN, Ba A | 4. 巻<br>12              |
| 2. 論文標題<br>A pantropically introduced tree is followed by specific ectomycorrhizal symbionts due to pseudo-vertical transmission   | 5. 発行年<br>2018年         |
| 3. 雑誌名<br>ISME Journal   | 6. 最初と最後の頁<br>1806-1816 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41396-018-0088-y  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>該当する            |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Helbert, Turjaman M, Nara K  |
| 2. 発表標題<br>Ectomycorrhizal fungal communities of secondary Tristaniopsis forests in Indonesia |
| 3. 学会等名<br>Asian Mycological Congress (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Maman T, Hidayat A, Faulina SA, Yani A, Aryanto, Najmulah, Helbert, Nara K. Tamai Y.   |
| 2. 発表標題<br>Isolation, identification and utilization fungi associated with Tristaniopsis obovata grown in heath forest ecosystem, Bangka Island, Sumatra, Indonesia |
| 3. 学会等名<br>The 10th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushroom (招待講演) (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Kinoshita A, Sasaki H, Yamamoto K, Ohmae M, Orihara T, Obase K, Yamanaka T, Yamada A, Nara K     |
| 2. 発表標題<br>Revisiting Japanese truffle phylogeny and diversity: possibilities for cultivation and edibility |
| 3. 学会等名<br>The 10th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushroom (国際学会)                            |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Nara K   |
| 2. 発表標題<br>What will happen to ectomycorrhizal fungi in fragmented forests? : population genetic implications from endangered or relict forests |
| 3. 学会等名<br>The 10th International Workshop on Edible Mycorrhizal Mushroom (招待講演) (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Helbert, Turjaman M, Nara K   |
| 2. 発表標題<br>Ectomycorrhizal fungal communities of Tristaniopsis forests in Kalimantan Island, Indonesia |
| 3. 学会等名<br>第130回日本森林学会大会   |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>HELBERT・Kazuhide Nara   |
| 2. 発表標題<br>Ectomycorrhizal Fungal Communities in Tristaniopsis Forests on Bangka Island, Indonesia |
| 3. 学会等名<br>第128回日本森林学会大会   |
| 4. 発表年<br>2017年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)               | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)           | 備考 |
|-------|---|---------------------------------|----|
| 研究分担者 | 松田 陽介<br>(Matsuda Yosuke)<br>(30324552) | 三重大学・生物資源学研究所・教授<br><br>(14101) |    |

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 |
|---------|---------|