

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：24506

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15199

研究課題名(和文) 河川水中の菌類DNA解析による陸域の菌類子実体相の評価

研究課題名(英文) Evaluation of terrestrial mushroom assemblages by fungal eDNA analysis in river water

研究代表者

松岡 俊将 (Matsuoka, Shunsuke)

兵庫県立大学・シミュレーション学研究科・非常勤研究員

研究者番号：70792828

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、森林調査地において2年間、月に1度の継続的な調査を行うことにより、菌類子実体相(子実体発生調査)と、河川水中の菌類DNA相(DNAメタバーコーディング調査)を評価し、比較した。子実体調査では計158 OTU(操作的分類群)、水中からは計308 OTUの陸生かつ子実体を形成することが知られる分類群の菌類が検出された。子実体で検出された菌類のうち、半数以上(82 OTU)が水中のDNAから検出された。さらに、子実体調査と水中の菌類DNA調査の両者において、異なる年でも調査月が同じであれば菌類種組成は互いに似るといふ、類似した季節変化パターンを検出可能であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果は、森林内を流れる河川水中のDNAを分析することで、子実体探索によらずに森林内の菌類多様性やその時間変化情報にアクセスできる可能性を示している。採水とDNA分析は、従来の菌類多様性探索方法よりも野外の調査労力が少なく、さらに菌類の同定という高度な専門的知識を必ずしも必要としないことから、中長期的な多様性モニタリングに適した手法である。菌類は、その高い多様性ゆえに森林内での多様性やその時間変化を捉えることは難しかったが、従来法に加えて本研究で示した手法を取り入れることで、菌類多様性探索や、多様性の環境変動応答といった菌類多様性研究をより効率的に行うことが出来るようになると思われる。

研究成果の概要(英文)：In this study, I compared fungal mushroom assemblages (mushroom survey) and fungal DNA assemblages in river water (fungal DNA metabarcoding survey) through monthly surveys for two years in a forest site. A total of 158 OTUs were detected in the mushroom survey, and 308 OTUs belonging to taxa known to be terrestrial and to form mushroom were detected in the DNA survey. Of the fungi detected as mushrooms, more than half (82 OTU) were detected in DNA in water. In addition, similar patterns of seasonal variation were detected in both mushroom and waterborne fungal DNA, indicating that fungal species composition is similar to each other when the survey months are the same, even in different years. These results suggest that investigating fungal eDNA in river water can efficiently investigate fungal diversity and its temporal variation in a forest.

研究分野：生態学

キーワード：菌類 生物多様性 DNAメタバーコーディング 時系列調査 環境DNA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

森林生態系において、菌類は植物との相利共生的な養分交換(菌根菌)や寄生(寄生菌)、そして植物遺体の分解(分解菌)等を通じて、植物の生長・生存や土壤炭素・窒素等の養分循環といった生態系機能を担っている。近年、菌類の発揮する生態系機能(有機物分解速度など)は、その場所の菌類相(種数と種組成)と関係しうることが示され始めてきた。そのため、森林生態系において、菌類が駆動する生態系機能や生態系サービスの維持・管理を考える上では、いつどこにどのような菌類が生息しているのかという、菌類相とその季節変動の情報が不可欠である。従来の菌類相評価の1つとして、調査地に発生した菌類子実体(きのこ)を採集し、同定するという方法がある。しかし、例えば数か月にわたる継続的な子実体発生調査は、そのほとんどが数十メートル程度という局所的な空間スケールに限定されている。これは以下のような理由による。まず、子実体は巨視的形態(色・形・大きさ)の特徴に乏しいものが多く発見がしばしば困難であり、調査には時間を要する。さらに、個々の子実体の形態観察あるいは DNA 塩基配列情報に基づく種同定には、専門的な知識や多額の解析費用が必要である。一般に森林における菌類多様性は、空間的な異質性が高いため、広範囲の調査は調査時間がかかることに加えて、一回の調査で数百に及ぶ多量のサンプル解析が要求される。これら菌類相調査の時間的・金銭的コストの高さから、野外における多様性や種の分布、特に多様性の季節変動情報は他の動植物と比べても非常に乏しいのが現状である。

一方、菌類の分散体である孢子や断片化された菌糸は、重力落下や降雨に伴う地表水の流れに従って、森林内を流れる河川に流入している。そこで、河川水中に存在する環境 DNA をメタバーコーディングにより網羅的に解析することで、子実体調査よりも低い調査・解析労力で集水域の菌類相とその季節変動を評価できると考えた。

## 2. 研究の目的

林内における子実体の発生調査と、河川水の採水を継続して行うことで、子実体相と河川水中の菌類 DNA 相とその時間変動パターンを明らかにし、結果を比較する。

## 3. 研究の方法

調査地である京都市内の二次林において、2年間、月に1度の継続的な子実体調査と河川水の採水を行った。まず、子実体を対象に形態観察と菌類のバーコーディング領域(rDNA の ITS1)の配列を決定することで同定を行った。次に、河川水中の DNA を対象に菌類 DNA メタバーコーディングを行うことで、DNA の由来生物の同定を行った。最後に、子実体相と水中の菌類 DNA 相の多様性とその時間変化パターンを比較することで、菌類多様性の季節変動評価における河川水中の有用性を評価した。

## 4. 研究成果

子実体調査では2年間で合計 158 OTU(操作的分類群)を検出した。一方で、水中からは2年間で合計 4388 OTU が検出され、このうち 308 OTU が陸生かつ大型の子実体を形成することが知られる分類群に含まれた。このうち 82 OTU は子実体調査と水中の DNA の両者から検出された。子実体調査と水中の DNA のみから検出された OTU はそれぞれ 76

OTU と 226 OTU であった。特に、子実体調査で特に多く見つかったグループ(ベニタケ科)と水中の DNA として多く検出されたグループ(コウヤクタケ科)が異なっており、OTU 組成全体も子実体調査と水中の DNA 間で有意に異なっていた。一方、子実体調査においても水中の菌類 DNA 調査においても、検出された OTU 組成は時間とともに変化していた。時間パターンの比較解析の結果、いずれの手法においても、異なる年でも調査月が同じであれば OTU 組成は互いに似るといった季節的な変化パターンが検出されることが示された。これらの結果は、水中の DNA 調査によって子実体で見られる菌類の半数以上が検出可能であり、どちらの方法でも菌類の時間パターンが検出可能である可能性を示している。特に、水中の DNA 調査では、子実体を形成する菌類だけでなく、大型の子実体が知られていない菌類(かびなど)とその時間変動も検出できた。水中の菌類 DNA 相調査は、子実体調査に比べてフィールド調査にかかる時間が圧倒的に少なく(一回で 30 分程度)、さらに数百サンプルを同時並列的に解析可能である。そのため、菌類相の時間変動調査において有用だと考えられる。ただし、子実体が得られた種のうち約半数はその DNA が水中から検出されなかったことから、両調査手法は相互補完的であり、両者を併用することで従来の多様性調査よりも多くの菌類を検出できると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Matsuoka Shunsuke, Ogisu Yuhei, Sakoh Sayaka, Hobara Satoru, Osono Takashi	4. 巻 21
2. 論文標題 Taxonomic, functional, and phylogenetic diversity of fungi along primary successional and elevational gradients near Mount Robson, British Columbia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Polar Science	6. 最初と最後の頁 165-171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.polar.2018.09.004	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Matsuoka Shunsuke, Suzuki Yoriko, Hobara Satoru, Osono Takashi	4. 巻 35
2. 論文標題 Fungal succession and decomposition of composted aquatic plants applied to soil	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Fungal Ecology	6. 最初と最後の頁 34 ~ 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.funeco.2018.06.005	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Matsuoka Shunsuke, Sugiyama Yoriko, Sato Hirotoishi, Katano Izumi, Harada Ken, Doi Hideyuki	4. 巻 3
2. 論文標題 Spatial structure of fungal DNA assemblages revealed with eDNA metabarcoding in a forest river network in western Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Metabarcoding and Metagenomics	6. 最初と最後の頁 e36335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3897/mbmg.3.36335	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Matsuoka Shunsuke, Iwasaki Takaya, Sugiyama Yoriko, Kawaguchi Eri, Doi Hideyuki, Osono Takashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Biogeographic patterns of ectomycorrhizal fungal communities associated with <i>Castanopsis sieboldii</i> across the Japanese archipelago	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 2656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2019.02656	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Matsuoka Shunsuke, Sugiyama Yoriko, Tateno Ryunosuke, Imamura Shihomi, Kawaguchi Eri, Osono Takashi	4. 巻 7
2. 論文標題 Evaluation of host effects on ectomycorrhizal fungal community compositions in a forested landscape in northern Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Royal Society Open Science	6. 最初と最後の頁 191952 - 191952
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsos.191952	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

[学会発表] 計8件(うち招待講演 2件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 松岡俊将
2. 発表標題 空間・時間傾度に伴う陸生菌類の群集集合
3. 学会等名 日本生態学会第66回大会 シンポジウム「群集生態学のこれまでとこれから」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松岡俊将
2. 発表標題 DNAメタバーコーディングで迫る菌類の多様性 環境DNAから何が分かるのか
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会 シダ学会研究集会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松岡俊将, 下野義人, 杉山賢子, 土居秀幸
2. 発表標題 菌類メタバーコーディングを用いた河川水中の菌類DNA相とその時間変動評価
3. 学会等名 第1回環境DNA学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松岡俊将・佐藤博俊・原田憲・片野泉・土居秀幸
2. 発表標題 メタバーコーディングが明らかにする河川水中の菌類相とその空間構造
3. 学会等名 日本陸水学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松岡俊将・下野義人・佐藤博俊・土居秀幸
2. 発表標題 菌類メタバーコーディングを用いた河川水中の菌類相とその時間変動評価
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Matsuoka Shunsuke, Sugiyama Yoriko, Shimono Yoshito, Ushio Masayuki, Doi Hideyuki
2. 発表標題 temporal dynamics of fungal DNA assemblages evaluated by eDNA metabarcoding in a forest river water in Japan
3. 学会等名 Asian Mycological Congress 2019 (AMC2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松岡俊将, 杉山賢子, 永野真理子, 土居秀幸
2. 発表標題 DNA抽出キットとPCR反復数が陸水菌類メタバーコーディングの結果に与える影響
3. 学会等名 第2回環境DNA学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松岡俊将, 杉山賢子, 下野義人, 潮雅之, 土居秀幸
2. 発表標題 環境DNAメタバーコーディングによる河川水中の菌類DNA相の時間変動評価
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考