

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21248018

研究課題名（和文）

外生菌根共生における地下部菌糸体ネットワークと転流ドメインの形成機構の解明

研究課題名（英文）

Study of dynamic changes in the subterranean mycelial network
and translocational domain during ectomycorrhizal symbiosis

研究代表者：宝月 岱造 (HOGETSU TAIZO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：10107170

研究成果の概要（和文）：外生菌根共生は、菌根から土壤中に伸展する根外菌糸体によって支えられている。そこで本研究では、実際の森林における菌根菌種の多様性と分布を調べるとともに、根外菌糸体に着目して、菌根共生系内の養分転流と根外菌糸体間の相互作用を、分離菌株を接種したマツ苗によるトレーサー実験等により調べた。その結果、①天然更新しているコメツガ実生では、根系内の菌根菌種の多様性は高く、多くの菌種が固まって分布すること、②転流の駆動力が根外菌糸体全体で発生していること、③子実体が強いシンク能をもつこと、④同一クローンの根外菌糸体は、接触すると比較的速やかに結合してより広範な根外菌糸体ネットワークを形成すること、⑤菌糸体間の結合に伴って転流のドメインも拡大することが明らかになった。また、これらの結果をもとに、森林における菌根菌動態に関して、「頻繁な根外菌糸体の修復」の可能性を指摘するとともに、「外生菌根菌ギルド」という新たな概念を創出した。

研究成果の概要（英文）：The extraradical mycelium (EXM) is the origin of functions in ectomycorrhizal symbiosis. In this study, we investigated the diversity and spatial distribution of ectomycorrhizal (ECM) fungal species in forest, and the nutrient translocation within EXM and interactions between EXMs using tracer experiments with *Pinus densiflora* seedlings. Consequently, we found a high species diversity and clustered distribution of ECM fungi. We also demonstrated that all portions in EXM and sporocarps are strong sinks, and that neighboring EXMs interact and connect each other with thick hyphal bands and enable the nutrients to be translocated freely between them. These results led us to new ideas, "frequent EXM reconstruction" and "ectomycorrhizal guild", in relation to EXM dynamics in forest.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	29,800,000	8,940,000	38,740,000
2010年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2011年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	36,800,000	11,040,000	47,840,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：コメツガ・根外菌糸体・菌糸融合・シンク能・トレーサー実験・オートラジオグラフィ

1. 研究開始当初の背景

外生菌根菌(以下菌根菌)は、我が国の森林を構成する大多数の樹木に共生し、それらの生存や成長を助けている。共生構造である菌根が我々の目に付きにくい地下部に形成されるため、この共生の重要性は見過されがちであるが、樹木種によっては、菌根菌との共生無しにはほとんど成長できず、生存もおぼつかないことさえある。

個々の菌根からは菌糸が伸長して、土壌中に根外菌糸体が発達する。菌根の共生機能は、樹木からの光合成産物や菌糸が吸収した養分がこの根外菌糸体内を転流することを通して発揮される。従って、この根外菌糸体の特徴や動態を把握することが、菌根共生の実体を知る上で極めて重要である。また、実際の森林の地下では、個々の菌根から発した根外菌糸体が、隣接したり重なり合ったりして共存していると考えられる。従って、根外菌糸体間の相互作用も、共生機能の発揮には重要な役割を果たしていると考えられる。それにも関わらず、根外菌糸体の特徴やダイナミズムに関しては、その重要性に比して実証的研究が極めて少ないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では、根外菌糸体での菌根共生の実像を明らかにし、菌糸体ネットワーク、転流ドメイン、転流駆動力(シンク能)に関する基本概念を提案することを目的とした。そのために、①天然更新しているコメツガ実生について、根系内の菌根菌種の多様性と分布を詳細に調べた。また、とりわけ根外菌糸体内の養分転流と根外菌糸体間の相互作用に着目し、②転流の駆動力が根外菌糸体のどの部分に由来するのか③子実体に転流の駆動力はあるのか、④根外菌糸体は互いに結合してより広範な菌糸体ネットワークを形成し得るのか、⑤それに伴って転流のドメインも拡大するのかを、実験的に検討した。

3. 研究の方法

- (1) 根系内の菌種の多様性と詳細分布：①八ヶ岳山麓のシラビソ-コメツガ林で、コメツガ実生を採集し、全ての外生菌根の位置を記録した。②個々の菌根内の菌種をITS領域の塩基配列に基づいて同定し、菌種の空間分布図の特徴を検討した。
- (2) 菌糸体内の転流駆動力：①コツブタケ属菌株を感染させたアカマツ苗を、オアシス平板を詰めた根箱内で栽培した。②オアシス上に根外菌糸体が展開した後、根外菌糸体の一部をオアシスごと切断した。③光合成を通して $^{14}\text{CO}_2$ を苗に取り込ませ、イメージングプレートを用いたオートラジオグラフィによって ^{14}C

の転流を経時的定量的に追跡した。

- (3) 子実体のシンク能：①ウラムラサキ菌を感染させたアカマツ苗を(2)と同様に栽培し、そのうち子実体を形成した試料について地上部に $^{14}\text{CO}_2$ を取り込ませ、 ^{14}C の転流を経時的定量的に追跡した。
- (4) 菌糸体ネットワーク：①同一または異なるコツブタケ属菌株を感染させたアカマツ苗を二本栽培した。②両者の根外菌糸体の一部をオアシスごと切断し、根外菌糸体の切断部が隣接するように配置して栽培した。③隣接部における菌糸体間の相互作用を、実体顕微鏡を用いて経時的に観察した。
- (5) 転流ドメイン：(4)と同一の実験系で、光合成によって地上部に $^{14}\text{CO}_2$ を取り込ませ、イメージングプレートを用いたオートラジオグラフィによって、経時的定量的に ^{14}C の転流を追跡した。

4. 研究成果

- (1) 菌種の多様性と詳細分布：①一本のコメツガ実生の根系でも、多数の菌根菌種が同定された。また多数の菌種はクラスター状に分布しており、互いにモザイク状に隣接していた。②このことから、実際の森林では、多くの菌種の根外菌糸体が狭い領域で隣接して分布していることが推定された。
- (2) 転流駆動力：①根外菌糸体の一部を切除しても、根外菌糸体内の光合成産物の転流パターンは変化しなかった。②このことから、転流の駆動力が根外菌糸体全体で発生していること、また、菌糸体内の光合成産物の転流は、特定の方向性をもたず比較的自由に起こることが分かった。
- (3) 子実体のシンク能：①比較的多量の光合成産物が子実体に転流すること、数日で子実体への転流が停止することが分かった。②このことから、子実体が強いシンク能をもつこと、また、主に直近に固定された光合成産物が転流されることが分かった。
- (4) 菌糸体ネットワーク：①同一の菌株の根外菌糸体が接触すると、2~3日で両者の間に菌糸束の連絡が出来た。また、異なる菌株が接触した時は、互いの菌糸体間では菌糸成長が起こらず、排他的に分離したままであった。②これらのことから、同一菌株の菌糸体が接触すると、直ちに両者の結合が起こり、両菌糸体を含む根外菌糸体ネットワークが形成されることが分かった。
- (5) 転流ドメイン：① ^{14}C のトレーサー実験により、異なる菌株の菌糸体間では、

^{14}C の転流は全く起こらないが、同一菌株の菌糸体間では、比較的自由に ^{14}C の転流が起こった。②このことから、同一菌株の菌糸体が結合すると、菌糸の融合が起こり、光合成産物も自由に転流するようになること、すなわち転流ドメインが拡張されることが分かった。

- (6) **仮説の提案**：以上の結果を踏まえ、根外菌糸体について、「一旦形成された根外菌糸体が、各種攪乱によって分断された後、再び結合してより大きな根外菌糸体ネットワークを回復する。それと同時に、根外菌糸体内の養分転流ドメインも同様に拡大する」という仮説を提案した。またこの仮説を敷衍して、「このような根外菌糸体間結合が、異なる菌クローン間でも組み合わせによっては起こり、いわば「外生菌根菌ギルド」を形成する」という斬新な作業仮説も提案した。

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)

1. 宝月岱造 (2010) 外生菌根菌ネットワークの構造と機能. 土と微生物 64: 57-63
2. Teramoto M, Wu BY, Hogetsu T (2012) Transfer of ^{14}C -photosynthate to the sporocarp of an ectomycorrhizal fungus *Laccaria amethystina*. Mycorrhiza 22: 219-225.
3. Wu BY, Maruyama H, Teramoto M, Hogetsu T (2012) Structural and functional interactions between extraradical mycelia of ectomycorrhizal *Pisolithus* isolates. New Phytologist 194: 1070-1078

[学会発表] (計12件)

1. 寺本宗正・呉炳雲・宝月岱造 (2010) 「クロマツ菌根苗の根外菌糸体による糖とアミノ酸の吸収と転流」 菌根研究会大会, 千葉大学
2. 寶月岱造 (2010) 「森林の地面の下の多様性」 第39回東京大学農学部公開セミナー「農学から生物多様性をみる」
3. Wu BY, Maruyama H, Teramoto M, Hogetsu T (2010) "Functional partition within subterranean ectomycorrhizal network caused by mycelial incompatibility" XXIII IUFRO World

Congress, 23-28 Aug, Seoul, Korea

4. 宝月岱造 (2010) 「外生菌根菌ネットワークの構造と機能」 日本土壤微生物学会特別講演, 東京大学
 5. 小松隆平・高橋由紀子・岩本宏二郎・松下範久・宝月岱造 (2010) 「亜高山帯針葉樹林内の異なる定着サイトに更新したコメツガ稚樹の成長と外生菌根菌相」 第121回日本森林学会大会, 筑波大学
 6. 寺本宗正・呉炳雲・宝月岱造 (2011) 「外生菌根菌ウラムラサキ子実体への炭素転流」 菌根研究会, 広島大学
 7. 呉炳雲 (2011) 「放射性同位元素を用いた外生菌根共生系における養分転流の可視化」 菌根研究会, 広島大学
 8. 寺本宗正・呉炳雲・宝月岱造 (2011) 「菌根菌ウラムラサキの子実体形成過程における光合成産物シンク能」 第122回日本森林学会大会, 静岡大学
 9. 呉炳雲・丸山永・寺本宗正・宝月岱造 (2011) 「外生菌根根外菌糸体の結合による栄養転流ドメインの拡大」 第122回日本森林学会大会, 静岡大学
 10. 吉田尚広・孫貞阿・小松隆平・高橋由紀子・岩本宏二郎・松下範久・宝月岱造 (2011) 「八ヶ岳亜高山帯針葉樹林の露岩上に更新したコメツガ稚樹とシラビソ稚樹の根系における外生菌根菌の詳細分布」 第122回日本森林学会大会, 静岡大学
 11. 寺本宗正・呉炳雲・宝月岱造 (2012) 「外生菌根根外菌糸から吸収されたアミノ酸由来の炭素は宿主へ受け渡されるか？」 第123回日本森林学会大会, 宇都宮大学
 12. 吉田尚広・孫貞阿・小松隆平・高橋由紀子・岩本宏二郎・松下範久・宝月岱造 (2012) 「露岩上に更新したコメツガ稚樹に共生する外生菌根菌の詳細分布と菌種の偏り」 第123回日本森林学会大会, 宇都宮大学
- ## 6. 研究組織
- (1)研究代表者
宝月岱造
東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授
研究者番号：10107170

(2)研究分担者

松下範久(平成 21 年度のみ)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：00282567

呉 炳雲

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：10396814