

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06306

研究課題名(和文) 定着に特定の共生菌を必須とする植物は、どうやって海洋島へ定着したのか？

研究課題名(英文) How did plants requiring symbiotic fungi colonize oceanic islands?

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)：火山活動でできた海洋島では、裸地へ様々な植物が侵入して独自の植物相が形成される。しかし、陸上植物には特定の共生パートナーがいる場所では定着できない植物が存在する。本研究は、発芽やその後の生育に特定の共生菌類から栄養供給を受ける必要があるラン科植物がどのように海洋島に定着したのかを、トサカメオトランをモデルに研究した。その結果、本種は汎世界的に分布する菌類と共生関係を持ち、海洋島に先に侵入した広域分布種の菌類と共生することで定着に成功した可能性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋島では風や波、鳥などで偶然運ばれた種で生物相が形成され、独自の生態系が見られる。植物が海洋島へ進出する戦略は、これまで風や動物による種子散布様式が着目されてきた。しかし、生物間相互作用も重要な定着因子となっている可能性がある。本研究は、特定の共生パートナーが定着に必須である植物が、海洋島への定着を成し得たメカニズムを明らかにし、海洋島の生物相形成の理解に大きく貢献した。

研究成果の概要(英文)：Orchids require orchid mycorrhizal fungi (OMF) to germinate, and thus OMF associations play a key role in the expansion of orchid distributions. *Geodorum densiflorum* is widely distributed in tropical and sub-tropical Asia and Oceania. In Japan, this species was distributed in the Ryukyu Islands, but has recently been found in the Bonin Islands. We compared the OMF community of *G. densiflorum* between Ryukyu and Bonin Islands populations for understanding the mycorrhizal association involved in the recent expansion to the Bonin Islands. The common OMF fungi, *Tulasnellaceae*, were dominant in both islands. Phylogenetic analysis revealed that main fungal partners showed world-wide distributions. These results suggest that such wide distributing fungi allow the expansion of *G. densiflorum* to the Bonin Islands.

研究分野：植物学、系統分類

キーワード：菌根共生 海洋島 ラン科植物 種子発芽

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

火山活動でできた海洋島では、裸地へ様々な植物が侵入することで独自の植物相が形成される。しかし、陸上植物の中には、特定の共生菌パートナーがいる場所でしか定着できない種類が存在する。このような特性は、一見分布拡大には不利に思えるが、実際は海洋島にも自生が見られる。一体どうやって定着したのだろうか？

植物の分布を規定する要因は、降水量や気温などの環境要因や種子散布様式などが主要因として解明されてきた。しかし近年、植物を取り囲む多様な生物相が解明され、生物間相互作用も重要な定着因子となっている可能性が指摘されている。特に、植物と根に感染する菌類(菌根菌)が栄養分を供給しあう菌根共生は、陸上植物の8割が営む共生系であり、主要な制限要因となりうるが、これまで植物の分布特性における菌根共生の関与はあまり議論されることがなかった。

2. 研究の目的

ラン科植物はすべての種が微細種子をもち、特定の担子菌類と菌根共生を行う。種ごとに菌共生パターンが多様化し、海洋島にも自生することから、本研究のモデルとして最適である。近年、小笠原諸島の海洋島である向島で、ラン科トサカメオトランの自生が新たに発見された。向島から最も近い本種の自生地は琉球諸島であることから、種子が1500kmあまり移動し海洋島に定着したと考えられている(引用文献1)。本研究は、海洋島の向島へ進出したトサカメオトランをモデルとし、微細種子植物が海洋島に定着したメカニズムを菌共生の観点から解明する。

3. 研究の方法

(1)成熟個体の共生菌相解明：小笠原の海洋島へ定着する際にどのような菌類が関与していたかを明らかにするため、小笠原に自生する成熟個体の根を採取し、DNA分析によって共生菌の種類を特定した。さらに、小笠原へ移入した際に、現地でこれまで共生してこなかった新たな菌をリクルートして定着したのか、あるいはこれまで他の分布地で共生していた同類の菌が小笠原にも存在していたのかを明らかにするため、比較対象として琉球列島の個体群についても同様の調査を行い、小笠原の菌相と比較した。

(2)種子発芽に関与する共生菌相解明：ラン科では発芽時と成熟時で共生する菌類相が変化するケースも知られている(引用文献2)。そこで、微細種子を袋に詰めて自生地に埋め、一定期間後に回収して発芽特性を解明する自生地播種試験法(引用文献3)を用いて、自生地での種子発芽に関わっている共生菌を明らかにすることを試みた。さらに、シャーレ内で種子と菌を共生培養し、in vitro 下で発芽に関与する菌種を特定した。

4. 研究成果

コロナ禍で初年度は自生地を訪問することができず、サンプルの入手が困難であったことから、次世代シーケンサーでラン科植物の共生菌類相を網羅的に解析する手法や、共生菌類を根から生きたまま取り出し、シャーレ上で種子と共生培養する手法の確立を進めた(業績1と2)。

(1)2年～3年目に自生地よりサンプルを採取し、DNA分析により共生菌を特定した。まず、サンガーシーケンス法で小笠原諸島(海洋島)の14個体と比較対照である琉球列島(大陸島)の15個体について共生菌を調査した。その結果、いずれの産地においてもラン科植物の普遍的な共生菌として知られるツラスネラ科の菌類が最も多く検出された(図1)。

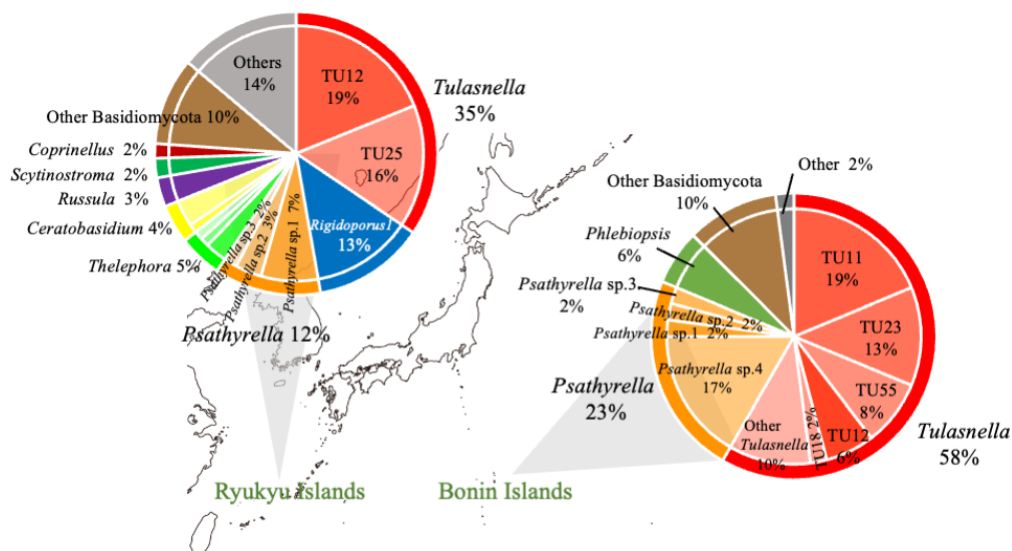


図1. 小笠原諸島と琉球列島のトサカメオトランにおける共生菌類相。数値は検出頻度。

次いで、木材腐朽菌として知られる *Psathyrella* が検出され、ツラスネラ科と *Psathyrella* と小笠原と琉球で共通する菌種も見られた。これらの菌類の塩基配列を用いて分子系統解析を行った結果、汎世界的に分布する菌種が多く含まれていた。このことから、本種は広域分布種の菌類と共生関係を築いており、海洋島ではすでに島に定着していた広域分布種の菌類と共生することで定着に成功した可能性が明らかになった。

近年、共生菌を網羅的に解析することができる次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析が主流となってきていることから、現在抽出した DNA を本手法で解析している。また、トサカメオトランはミクロネシアの海洋島であるグアム島にも分布しており、グアム大学との海外共同研究により 3 年目に本種の共生菌をグアム島で調査する機会を得た。現在これらのサンプルもグアム大学の協力のもと解析を行っている。これらの解析が完了した後、本成果を論文に取りまとめ、学術英文雑誌に投稿する予定である。

(2) 2 年目に小笠原の自生地に播種した種子を 3 年目に回収し、発芽した実生個体を得ることができた。一方で、琉球列島の西表島に播種した種子では発芽個体を見つけることができなかった。得られた実生苗の共生菌は、サンガーシーケンス法で主として *Psathyrella* であることが明らかとなった。現在これらの実生個体から抽出した DNA を成熟個体の根より抽出した DNA とともにメタゲノム解析に供試し、分析中である。

小笠原に自生する成熟個体の根より共生菌を取り出して純粋培養することに成功した。DNA 解析の結果、ツラスネラ科と *Psathyrella* の菌株であることが明らかとなった。これらの菌株を用いて小笠原産の種子とシャーレ内で共生培養試験を行った。その結果、ツラスネラ科は発芽を誘導しなかったが、*Psathyrella* はよく種子発芽を促進した (図 2)。

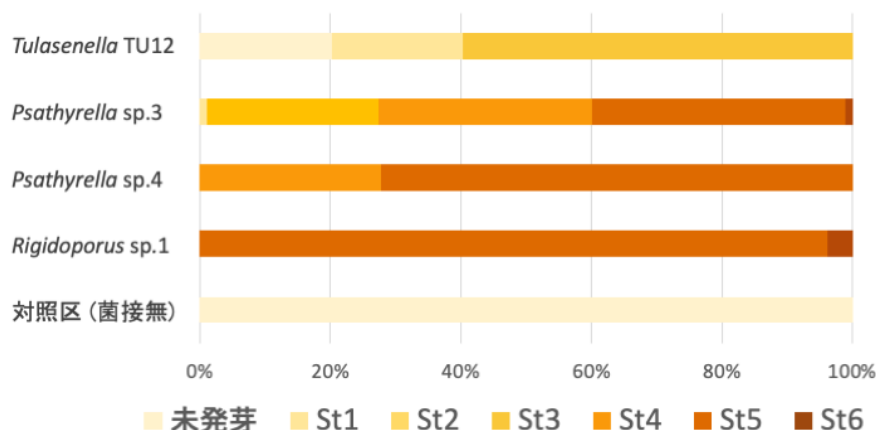


図 2. トサカメオトランの共生菌と種子の共生培養試験結果。数値は発芽ステージ 1~6 の割合を示す。Tulasnella と Psathyrella 菌株および種子は小笠原産、Rigidoporus 菌株は琉球産。

その後、琉球列島のトサカメオトランからも共生菌の菌株を得ることに成功し、小笠原産の菌株で琉球の種子が発芽するか、あるいは琉球産の菌株で小笠原の種子が発芽するかを調べるスワッピング試験を行った。その結果、いずれの組み合わせにおいてもツラスネラ科は発芽誘導に関与せず、*Psathyrella* もしくは *Rigidoporus* が種子発芽を促進した。

以上の結果から、トサカメオトランは種子発芽と初期生育時には主として *Psathyrella* を利用し、成熟後はこれらに加えてツラスネラ科と共生する可能性が示唆された。いずれの菌種も汎世界的に分布する種類であり、海洋島に共生可能な菌類が先に定着しており、飛来したトサカメオトランの種子がこれらと共生関係を築くことで定着につながったと考えられる。

<引用文献>

1. Yukawa, T., Kawaguchi, D., Mukai, A., and Komaki, Y. (2012). Discovery of *Geodorum densiflorum* (Orchidaceae) on the Ogasawara (Bonin) Islands: a case of ongoing colonisation subsequent to long-distance dispersal. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B, Botany* 38:131-137.
2. Ventre Lespiaucq, A., Jacquemyn, H., Rasmussen, H.N., and Méndez, M. (2021). Temporal turnover in mycorrhizal interactions: a proof of concept with orchids. *New Phytologist* 230:1690-1699.
3. Rasmussen, H. N., & Whigham, D. F. (1993). Seed ecology of dust seeds in situ: a new study technique and its application in terrestrial orchids. *American Journal of Botany* 80:1374-1378.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Rammitsu Kento, Yamamoto Nao, Chamara R. M. S. Ruwan, Minobe Mutsumi, Kinoshita Akihiko, Kotaka Nobuhiko, Ogura Tsujita Yuki | 4. 巻 38 |
| 2. 論文標題 The epiphytic orchid <i>Vanda falcata</i> is predominantly associated with a single Tulasnellaceae fungus in adulthood, and Ceratobasidiaceae fungi strongly induce its seed germination in vitro | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Plant Species Biology | 6. 最初と最後の頁 306 ~ 318 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1442-1984.12432 | 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 Chamara R. M. S. Ruwan, Rammitsu Kento, Minobe Mutsumi, Kinoshita Akihiko, Kotaka Nobuhiko, Yukawa Tomohisa, Ogura-Tsujita Yuki | 4. 巻 16 |
| 2. 論文標題 Mycorrhizal Fungi of <i>Phalaenopsis japonica</i> (Orchidaceae) and Their Role in Seed Germination and Seedling Development | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Diversity | 6. 最初と最後の頁 218 ~ 218 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/d16040218 | 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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 前原良美・木下晃・蘭光健人・阿部篤志・梶田忠・川口大朗・向哲嗣・遊川知久・辻田有紀 |
| 2. 発表標題 トサカメオトランの分布拡大に関与した菌根菌の解明 |
| 3. 学会等名 日本菌学会第66回大会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yoshimi Maehara, Akihiko Kinoshita, Kento Rammitsu, Atsushi Abe, Tadashi Kajita, Dairo Kawaguchi, Akitsugu Mukai, Tomohisa Yukawa, Yuki Ogura-Tsujita |
| 2. 発表標題 Mycorrhizal Fungi Involved in the Recent Expansion of <i>Geodorum densiflorum</i> in the Bonin Islands, Japan |
| 3. 学会等名 23rd World Orchid Conference (国際学会) |
| 4. 発表年 2024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 |
|---------------|--|--|----|
| 研究 分担 者 | 遊川 知久 (Yukawa Tomohisa) (50280524) | 独立行政法人国立科学博物館・植物研究部・グループ長 (82617) | |

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 | | | |
|---------|---------|--|--|--|
| 米国 | ゲアム大学 | | | |