

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号： 14101  
 研究種目： 挑戦的萌芽研究  
 研究期間： 2011～2012  
 課題番号： 23658124  
 研究課題名（和文） 森林生態系における樹木と林床植物を繋ぐ菌根菌ネットワークの機能的意義の解明  
 研究課題名（英文） Functional significance of mycorrhizal networks between trees and surrounding herbaceous plants in forest ecosystems  
 研究代表者  
 松田 陽介（MATSUDA YOSUKE）  
 三重大学・大学院生物資源学研究科・准教授  
 研究者番号： 30324552

## 研究成果の概要（和文）：

本研究では日本に広く分布する林床植物，イチヤクソウを対象として根の顕微鏡観察と DNA 解析，葉の安定同位体比を調べた。イチヤクソウには菌鞘が形成されないアーブトイド菌根が形成されていた。遺伝子解析により大部分の共生菌はベニタケ属の仲間と推定された。炭素安定同位体解析より，イチヤクソウは炭素源の約 50%を菌根菌に由来すると推定された。以上より，林床植物は根に共生する特定の菌類に部分的に炭素源を依存する部分的菌従属栄養性植物であると考えられた。

## 研究成果の概要（英文）：

The purpose of this study was to clarify mycorrhizal morpho-types, symbiotic fungi and stable isotopic ratio of green *Pyrola japonica* that distributes widely in Japan. Roots of *P. japonica* formed arbutoid mycorrhizas without forming fungal mantles. Molecular identification indicated that symbiotic fungi on the plant were predominated by members of the genus *Russula*. Based on the stable C isotopic analyses, *P. japonica* obtained about 50 % of C derived from associating fungi. These results indicated that *P. japonica* might depend its partial C sources onto particular fungal symbionts.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

## 研究分野：森林微生物学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：森林生態・保護・保全・菌根共生・菌根菌ネットワーク・イチヤクソウ・部分的菌従属栄養性

## 1. 研究開始当初の背景

光合成による独立栄養獲得と根に共生する菌，菌根菌を介した従属栄養獲得の両方を通して炭素源を得る植物を混合栄養性植物という。日本の森林に遍在する林床性のツツジ科の根に共生する菌類多様性と菌根共生の生態的意義を明らかにする。そして菌根菌への依存度を光条件の操作を通して明示し，従来からの独立栄養性植物の生存戦略に対してこのネットワークの意義と重要性を提示

する。

## 2. 研究の目的

本研究では，異なる光条件下に生育するイチヤクソウや他のツツジ科植物の菌根共生と混合栄養性の可塑性を明らかにするため，イチヤクソウ根の顕微鏡観察と DNA 解析，葉の炭素安定同位体比を調べた。

## 3. 研究の方法

対象植物はイチヤクソウ (*Pyrola japonica*; ツツジ科イチヤクソウ属, 図1) である。三重県津市美里町のコナラ、クヌギなどが優占し、部分的にヒノキが植栽された2次林を調査地とした。1月~11月にかけて、2ヶ月に1回、明所、暗所より各3個体を土壌ごと採取した。さらに共生菌のDNA解析用に22個体を追加で同一の調査地内より採取した。またイチヤクソウとその周辺で生育する木本植物実生の葉 (n=5)、菌根菌と材腐朽菌の子実体 (n=3) を同位体解析のため採取した。季節的にイチヤクソウ個体を採取した際、明所・暗所と林外における光条件を把握するため、照度計 (T-10) により計測し、林外に対する相対値として算出した。イチヤクソウの根の観察においては、各個体ごとに1cm×3か所、合計10-30断片を作成し、光学顕微鏡で根細胞を観察した(最大1000倍)。イチヤクソウに定着する共生菌を推定するため、個体あたり1~3根端を用いてDNA抽出を行い、その後核リボソームのITS領域か28S領域を対象としたダイレクトシーケンスを行った。安定同位体比の解析では Vienna-Pee Dee Belemnite と大気中 N<sub>2</sub> に対する千分率で  $\delta^{13}C$ ,  $\delta^{15}N$  を算出した。



図1. イチヤクソウ

#### 4. 研究成果

##### イチヤクソウの菌根

イチヤクソウの根を観察したところ、いずれの個体においても表皮細胞内でコイル状の菌糸が認められ、その細胞間隙に網目状のハルティヒネットが確認された(図2)。したがって、イチヤクソウは菌鞘を形成しないアーブトイド菌根を形成するものと考えられた。また細胞内における菌糸の性状は季節により様々であり、菌糸が侵入してから間もないもの、細胞全体に菌糸が充満しているもの、菌糸体構造が全く認められないものなど

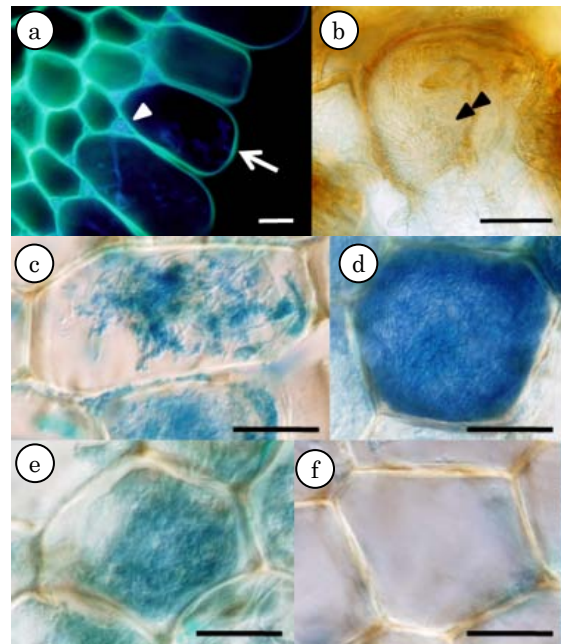


図2. イチヤクソウ根系と根内細胞 (a)根横断面における表皮細胞 (←) とその基部における菌糸構造 (△), (c)表皮細胞間隙におけるハルティヒネット (▲▲), (c-f)根細胞における菌根形成状況; (c)部分的に菌が貫入した感染初期, (d)細胞全体に菌糸が蔓延する菌根, (e)全体が不明瞭な分解, (f)菌糸の感染がないか. バーは50μm

様々であった。

##### イチヤクソウに定着する菌根菌

イチヤクソウ58個体、155サンプル中、42個体68サンプルから配列が得られた(43.9%)検出された菌の大部分は、分類的には樹木の細根に定着し菌根を形成する外生菌根菌の仲間が優占していた(図3)。その84%は *Russula* 属(ベニタケ属)菌であった。過去のイチヤクソウ属の研究では、外生菌根性の菌根菌が定着することは示唆されていたが、本研究のような優占性は報告されていない。この事象がダイレクトPCRによる方法論的なものであるかどうかは今後の検証が必要である。

##### イチヤクソウの炭素安定同位体比

イチヤクソウの $\delta^{13}C$ は-28‰前後であり、周辺に生育していた4樹種と無葉緑植物のギンリョウソウや菌根菌、腐生菌の菌類との中間に位置した(図4)。そしてその依存の程度は、同科のヤマツツジとギンリョウソウの $\delta^{13}C$ にもとづいて推定すると48.7%の炭素源を共生菌に由来すると考えられた。このこ

とは、イチヤクソウが自身の光合成だけでなく、共生する菌にも炭素源を依存する部分的菌従属栄養性であることを示唆している。さらに、得られた  $\delta^{13}\text{C}$  値はイチヤクソウが生育していた光条件と負の有意な相関を示した (図5)。このことは、共生菌への炭素源の依存度は生育する光条件によって変動し、暗くなるほど、すなわち光合成産物が不足するような環境においてより依存性が高くなることを意味する。

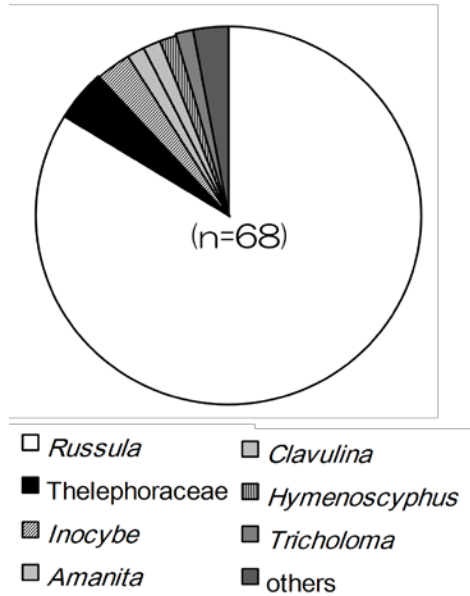


図3. イチヤクソウの根から検出された菌類

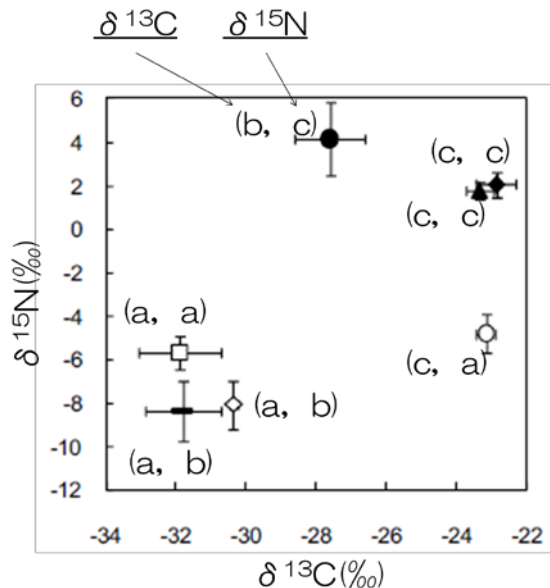


図4. イチヤクソウ, その周辺の植物, 菌類の炭素, 窒素安定同位体比  
 レンゲツツジ (□), イチヤクソウ (●), ヒサカキ (-), アラカシ (◇), ギンリョウソウ (▲), コテングタケ? (◆) アラゲカワウソタケ? (○)

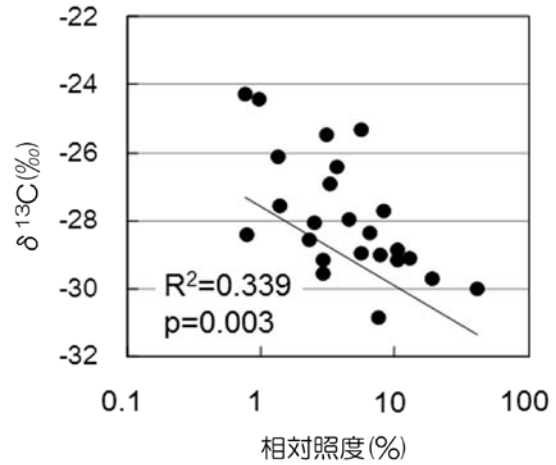


図5. イチヤクソウ葉を採取した地点の相対照度と炭素安定同位体比の相関関係

### 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7件)

1. Matsuda Y, Takano Y, Shimada M, Yamanaka T, Ito S (2013) Distribution of ectomycorrhizal fungi in a *Chamaecyparis obtusa* stand at different distances from a mature *Quercus serrata* tree. *Mycoscience* 54(4): 260-264, 10.1016/j.myc.2012.09.019, 査読有
2. Obase K, Matsuda Y, Ito S (2013) *Enkianthus campanulatus* (Ericaceae) is commonly associated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 23(3): 199-208, 10.1007/s00572-012-0462-y, 査読有
3. Matsuda Y, Shimizu S, Mori M, Ito S, Selosse M-A (2012) Seasonal and environmental changes of mycorrhizal associations and heterotrophy levels in mixotrophic *Pyrola japonica* growing under different light environments. accepted for *American Journal of Botany* 99: 1177-1188, 10.3732/ajb.1100546, 査読有
4. Matsuda Y, Okochi S, Katayama T, Yamada A, Ito S (2011) Mycorrhizal fungi associated with *Monotropastrum humile* (Ericaceae) in central Japan. *Mycorrhiza* 21: 569-576, 10.1007/s00572-011-0365-3, 査読有
5. 松田陽介 (2012) IV-3. ヒノキ林における外生菌根菌の分布. 広葉樹林化ハンドブック2012. . 独立行政法人 森林総合研究所四国支所編, 18-19pp., 査読無
6. 山田明義・松田陽介 (2012) 外生菌根菌の放射能汚染に関わる諸問題. 日本きの

- こ学会誌20:154-157, 査読無
7. 齋藤雅典・山田明義・松田陽介・大和政秀 (2012) 菌類による放射性セシウムの吸収・蓄積. セミナー室「放射性降下物の農畜産水産物等への影響-4」. 化学と生物50:748-751, 査読無
- [学会発表] (計 14 件)
1. 小長谷啓介・松田陽介 (2013) ツツジ科植物の進化過程における菌根菌の変遷に関する一考察. 第125回日本森林学会大会. 岩手大学 (盛岡市), 2013年3月26-28日
  2. 松田陽介・清水瞳子・森万菜実・伊藤進一郎・Selosse MA (2013) 異なる光条件下に生育するイチヤクソウの菌根共生と従属栄養性の季節変化. 第60回日本生態学会, グランシップ (静岡市), 2013年3月5-9日
  3. Obase K, Matsuda Y (2013) Mycorrhizal status of *Enkianthus campanulatus* (Ericaceae). Seventh International Conference on Mycorrhiza (ICOM7) New Delih, インド, Jan 6 – 11, 2013
  4. Selosse M-A, Matsuda Y, Palancade C, Hashimoto Y (2012) Convergent evolution of heterotrophy in mycorrhizal symbioses of Monotropoideae (Ericaceae) and Orchidaceae. 7th International Symbiosis Society Congress Jagiellonian University, Kraków, Poland July 22-28, 2012
  5. 小長谷啓介・松田陽介・伊藤進一郎 (2012) ツツジ科植物サラサドウダンにおけるアーバスキュラー菌根菌の多様性. 第123回日本森林学会大会. 宇都宮大学 (宇都宮市), 2012年3月28日
  6. Matsuda Y, Ito S (2012) How mycorrhizal networks contribute to keep biodiversity in forests? 2012 status and prospect of

researches on forest biodiversity. Feb 3-4, 2012, Kangwon National University, 韓国 (招待講演)

7. 小長谷啓介・松田陽介・伊藤進一郎 (2011) ツツジ科ドウダンツツジ属植物の菌根形成. 日本菌学会第55回大会, 北海道大学 (札幌市), 2011年9月10日
8. Matsuda Y, Obase K, Kimura Y, Takeuchi Y, Ito S (2011) Dominance of an ectomycorrhizal fungus *Cenococcum geophilum* in coastal Japanese black pine forests in Japan. Asian mycological congress 2011, Aug7-11, 2011, Incheon University, 韓国

[その他]  
ホームページ等  
<http://www.bio.mie-u.ac.jp/junkan/busshitsu/lab2/matsuda.htm>

6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
松田 陽介 (MATSUDA YOSUKE)  
三重大学・大学院生物資源学研究所・准教授  
研究者番号 : 30324552
- (2) 研究分担者  
なし
- (3) 連携研究者  
小長谷啓介 (OBASE KEISUKE)  
三重大学・大学院生物資源学研究所・特任教授 (教育担当)  
研究者番号 : 90612739