

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26840145

研究課題名(和文) 森林での植物-土壌フィードバックを駆動する土壌病原菌の同定と分布パターンの定量化

研究課題名(英文) Identification and quantification of microbial pathogens that drive plant-soil feedbacks in a forest ecosystem

研究代表者

潮 雅之(Ushio, Masayuki)

京都大学・生態学研究センター・科学技術振興機構さきがけ専任研究者

研究者番号：40722814

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は森林生態系における土壌微生物(主に真菌)の分布パターン(例えば、母樹の種類・母樹からの距離・土壌環境との関連性など)を明らかにするために行われた。熱帯ヒース林、熱帯低地林、冷温帯林などから実生の根・葉のサンプルを集めて、これらのDNA抽出と次世代シーケンサーを用いた配列解析を行い微生物の配列情報を取得した。その結果、樹種・土壌栄養塩の可給性に応じて実生から検出される菌類群集が異なっていることが明らかになった。一方、母樹と実生の微生物群集との空間的な位置関係・微生物と植物の機能的な関係はより詳細な統計解析が必要と考えられた。

研究成果の概要(英文)：The present study was performed to evaluate the relationship between tree species, soil physico-chemical properties and microbial (i.e., fungal/bacterial) community in forest ecosystems. Soil, root, and leaf samples from tropical heath forests, tropical lowland forests and cool-temperate forests were collected. DNAs of the samples were extracted and sequenced on Illumina MiSeq platform. There were significant differences in the fungal community compositions depending on tree species and soil nutrient availability. On the other hand, spatial relationships between tree individuals and microbial community and functional relationships between trees and microbes (i.e., mutualistic or parasitic) were found to be further examined using more advanced statistical techniques.

研究分野：森林生態学、微生物生態学

キーワード：微生物群集 森林生態系 病原菌 植物土壌相互作用 大量シーケンサー

1. 研究開始当初の背景

(1) 樹木群集は森林生態系の骨格をなしており、従って樹木群集の形成機構を理解することは森林生態系の成立・維持機構を理解するために重要である。近年の研究により、森林生態系の樹木群集の多様性の決定に植物-土壌間のフィードバック作用が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた (Mangan et al. 2010, Comita et al. 2010)。

(2) 一連の植物-土壌フィードバック作用の研究によると、ある樹木種の成木周辺土壌に落下し発芽した同樹種の実生は、違う樹種の成木周辺土壌で発芽した実生よりも高い死亡率を示す。この「同種の直下では生残しにくい」という現象がある樹種の樹冠下に他種が生育しやすいスペースを提供し、森林全体では樹木群集の多様性を上げる効果を持ち、このような現象が熱帯から冷温帯に至るまで様々な森林生態系で確認されている (Johnson et al. 2012)。従って、植物-土壌フィードバックの詳細なメカニズムを理解することが森林生態系の維持機構を理解するためにも重要であると考えられる。しかしながら、植物-土壌フィードバックのメカニズムとしては土壌病原菌の関連が示唆されているのみで、実際に植物-土壌フィードバックを駆動している病原菌が同定された例は非常に少ない。また、そのような土壌病原菌の森林内での空間的な分布もほとんど明らかになっていない。

2. 研究の目的

(1) そこで本研究では、熱帯から冷温帯にいたる幾つかの森林において主要な樹木種の樹冠下で土壌・実生の根や葉を採取し、そこから得られる DNA 配列を解析し、病原菌と思われる配列を推定する。

(2) 植物-土壌フィードバックを駆動している病原菌と思われる配列が同定できた場合にはその微生物特異的な DNA プローブをデザインし、蛍光顕微鏡により土壌中の病原菌を定量し空間分布を明らかにする。

(3) 土壌中の病原菌の空間分布が定量的に得られた場合には、土壌病原菌の分布情報を明示的に組み込んだ理論モデルを作成し、森林生態系の樹木多様性が説明できるかどうかテストする。

3. 研究の方法

(1) 熱帯から冷温帯にいたる幾つかの森林を訪れて、土壌や実生サンプルを採取する。採取したサンプルから DNA を抽出し、真菌のユニバーサルプライマーを用いて DNA を増幅し次世代シーケンサーにより配列を網羅的に決定する。得られた配列を元に真菌の分類群を決定し、森林生態系における菌類群集の情報を樹種や親木の分布と関連付けて得

る。また、基礎的な解析として菌類群集の群集生態学的な解析(多変量解析など)を行い、菌類群集の組成に与える影響(樹種、土壌条件、空間情報)を明らかにしておく。その後、同定された真菌の機能群(共生的か寄生的かなど)を配列から推定する。

(2) 病原菌と推定された配列を元にしてその微生物に特異的な DNA プローブをソフトウェアを用いてデザインする。デザインした蛍光プローブを用いて CARD-FISH (Ushio et al. 2013) を行い定量的な分布情報を得る。

(3) 得られた病原菌の空間分布情報を空間明示的な理論モデルに組み込んで樹木実生の加入・成長・死亡のプロセスをモデル化する。

<引用文献>

- Mangan et al. Negative plant-soil feedback predicts tree-species relative abundance in a tropical forest. *Nature* 466, 2010, 752-755
Comita et al. Asymmetric density dependence shapes species abundance in a tropical tree community. *Science* 329, 2010, 330-332
Johnson et al. Conspecific negative density dependence and forest diversity. *Science* 336, 2012, 904-907
Ushio et al. CARD-FISH analysis of prokaryotic community composition and abundance along small-scale vegetation gradients in a dry arctic tundra ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry* 64, 2013, 147-154

4. 研究成果

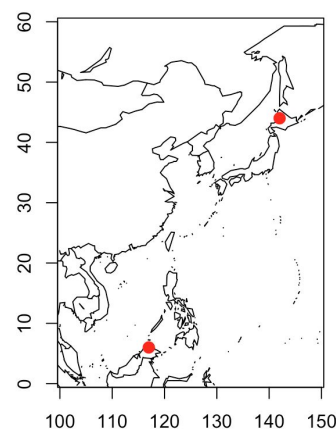


図1. 実生サンプリングを実施した調査値(赤丸)。北海道の冷温帯林(北海道大学天塩研究林)とマレーシアボルネオ島の熱帯林。

(1) 平成26年度(初年度)に熱帯林(マレーシア・ボルネオ島)でのサンプリングを行い、様々な樹種の樹冠下で樹木実生の根や葉を

サンプリングした(図1)。土壌についてもサンプリング予定であったが、サンプル数が増大することを考慮して実生みのみのサンプリングとした。平成27年度には冷温帯林(北海道・天塩研究林、図1)でのサンプリングを行い、熱帯林でのサンプリングと同様のサンプリングデザインでサンプルを取得した。

(2) 集めたサンプルのDNAを抽出し、真菌類特異的なユニバーサルプライマーを用いたPCRで真菌の配列のみを増幅した。増幅したDNA配列はIllumina MiSeq V3 300×2 cycleの試薬キットを用いてシーケンスした。

(3) 真菌群集の基礎的な情報を得るために群集生態学的な解析を行った。まず検出される真菌の種数(OTU数)を比較したところ、樹種間や土壌条件(サイト)によって大きな差は見られなかった(図2、熱帯林での解析例)。一方、真菌群集の組成に関しては、樹種や土壌栄養塩の違いによって違いが見られた(図3-4、熱帯林での解析例)。異なる樹木実生の根からは異なる真菌群集が検出される場合もあったが、樹種の効果は土壌(サイト)の効果と比べると弱かった。

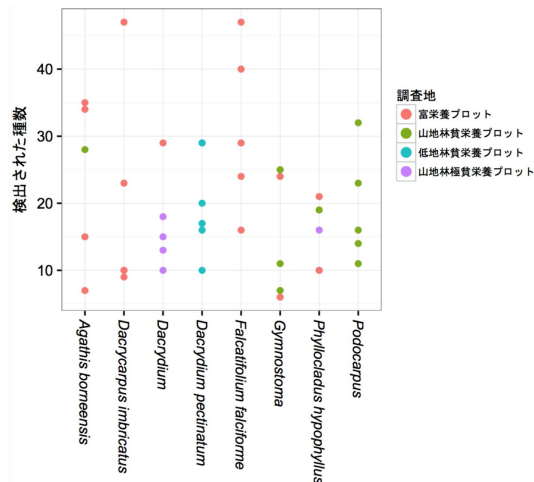


図2. 熱帯林の複数サイトでサンプリングした樹木実生の根から検出される真菌群集の多様性と樹種・サイトの関係。横軸は実生樹種を、縦軸は検出種数(OTU数)を示す。異なる色は異なる森林プロットを示す。

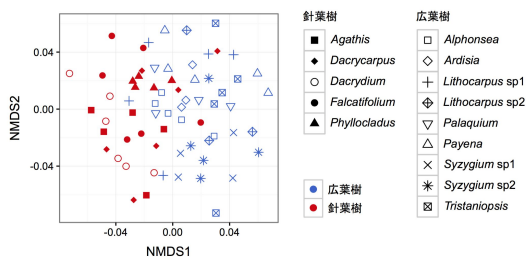


図3. 熱帯山地林でサンプリングした樹木実生の根から検出された真菌群集の群集組成。特に針葉樹と広葉樹で明瞭な差があった。

(4) 母樹との距離と真菌群集の組成の詳細な解析は研究期間内で達成できなかった。配列データは熱帯林・冷温帯林のサンプル全てで得られているため、今後の課題として取り組みたい。また、得られたDNA配列から実生と関連する真菌の機能の推定はある程度行えた。例えば、樹木と共生関係にある真菌(例、菌根菌)は多く検出されたが、そうでない(寄生もしくは腐生)の真菌も多く検出された。樹種や母樹との距離と真菌の機能群の関係も今後の解析課題である。

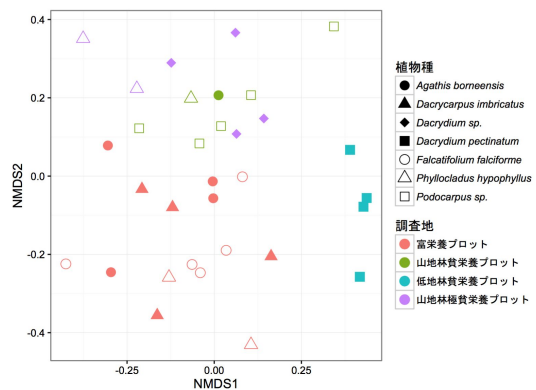


図4. 熱帯林の複数サイトでサンプリングした針葉樹実生の根から検出される真菌群集の組成と樹種・サイトの関係(NMDSで解析を行った)。各点は実生から検出された真菌群集の組成を示す。異なるシンボルは異なる樹種由来の真菌群集を示し、異なる色は異なる森林プロットを示す。

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4件)

相場慎一郎、宮本和樹、潮雅之、青柳亮太、澤田佳美、陸域生態系において球果類の優占度を決定するメカニズム、日本生態学会誌、査読有り、印刷中

潮雅之、マキ科・ナンヨウスギ科の根の形態・菌根菌・窒素固定活性、日本生態学会誌、査読有り、印刷中

Ushio, M., Aiba, S-I., Takeuchi, Y., Iida, Y., Matsuoka, S., Repin, R., Kitayama, K. Plant-soil feedbacks and the dominance of conifer in a tropical montane forest in Borneo. Ecological Monographs, 査読有, 87 巻, 2017, 105-129

Ushio, M., Fujiki, Y., Hidaka, A., Kitayama, K. Linkage of root physiology and morphology as an adaptation to soil phosphorus

impoverishment in tropical montane forests. *Functional Ecology*, 査読有, 29巻, 2015, 1235–1245

〔学会発表〕(計 4 件)

潮雅之. マキ科針葉樹の菌根菌・栄養塩獲得機構とボルネオ熱帯山地林の生態系動態. 森林生物学特別セミナー, 2016年7月15日, 京都府京都市

潮雅之, 相場慎一郎, 竹内やよい, 飯田佳子, 松岡俊将, 北山兼弘. マキ科針葉樹の菌根菌・栄養塩獲得機構とボルネオ熱帯山地林の生態系動態, 第63回日本生態学会, 2016年3月22日, 宮城県仙台市

Ushio, M., Fujiki, Y., Hidaka, A., Kitayama, K. Linkage of root physiology and morphology as an adaptation to soil phosphorus impoverishment in tropical montane forests. Japan Geoscience Union (JPGU) 2015 (招待講演), 2015年5月27日, 千葉県千葉市

Ushio, M., Fujiki, Y., Hidaka, A., Kitayama, K. Linking soil phosphorus availability, root properties and leaf phosphorus concentrations in tropical montane forests. 第62回日本生態学会, 2015年3月18–22日, 鹿児島県鹿児島市

〔その他〕

ホームページ:

<http://masayukiushio.web.fc2.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

潮 雅之 (USHIO, Masayuki)

京都大学・生態学研究センター・科学技術振興機構さきがけ専任研究者

研究者番号: 40722814