

平成 16 年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究状況報告書

ふりがな		すずき かずお		所属研究機関・部局・職		東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授	
研究代表者氏名		鈴木 和夫					
研究課題名	和文	根圏における生物共生機能の解明					
	英文	Mechanisms of Symbiosis in Rhizosphere					
研究経費		平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度	平成18年度	総合計
16年度以降は内約額 金額単位：千円		39,200	30,800	6,300	5,900	5,200	87,400
研究組織（研究代表者及び研究分担者）							
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担（研究実施計画に対する分担事項）				
鈴木 和夫	東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授	森林植物学	根圏共生系における生物間の相互作用の解明と研究の総括				
松下 範久	東京大学・大学院農学生命科学研究科・講師	森林植物学	根圏菌類群集の分子生物学的解析				
大澤 雅彦	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授	植物生態学	根圏共生系と森林構造の相互関係の解明				
福田 健二	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・助教授	生物圏機能学	根圏共生系と環境ストレスの相互作用の解明				
奈良 一秀	東京大学・アジア生物資源環境研究センター・助手	菌類生態学	根圏菌類群集の生態学的解析				
山田 明義	信州大学・農学部・助教授	生物資源科学	根圏菌類群集の解明と機能の実証				
当初の研究目的（交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。）							
<p>植物、特に永年生殖物である樹木には多様な微生物が共生しているのが自然の姿である。特に根圏における共生系は、森林における純生産量の大半を担うとともに、劣悪な環境への適応という機能を発揮することから地球環境保全の重要なキーファクターである。そこで、マツ林などをはじめとする森林における外生菌根共生機能の解明の基礎的研究として、養水分の吸収や循環、病原微生物に対する拮抗や抵抗性などの樹木の生育にとって重要な因子に及ぼす外生菌根菌の影響について、室内実験と野外調査の双方からの解明を目指す。また、その共生機能を利用したマツタケなど外生菌根菌の活用技術を図ることを目的とする。</p>							

これまでの研究経過（研究の進捗状況について、必要に応じて図表等を用いながら、具体的に記入してください。）

本研究では、以下の1~4の視点から、マツ林をはじめとする森林における外生菌根菌を軸とした根圏共生系における共生機能の解明を目指している。これまでに、以下の成果が得られた。

1. 森林における根圏共生系の全体像把握

- ・一次遷移の初期過程にある富士山の南東斜面において、子実体調査を行うとともに、分子生物学的手法を用いた地下部菌根菌群集の解析を行った。その結果、宿主の成長に伴い共生する菌根菌が遷移すること、宿主の光合成活性などの生理活性により菌根菌群集が大きく変化することが明らかにされた。
- ・オギ草原—ヌルデ低木林—アカマツ・コナラ林—シラカシ林という二次遷移過程における外生菌根菌群集の解析を行った結果、遷移に伴って菌根菌の多様性が増加するとともに、種の交代がみられることが明らかにされた。
- ・マツ科針葉樹林に発生する日本産マツタケと、ブナ科広葉樹林に発生する中国雲南省産のマツタケとの遺伝的関係を明らかにするために、rDNA領域の比較を行った。その結果、rDNA-ITS領域の塩基配列と、rDNA-IGS1領域のPCR-RFLPパターンが両者で一致することが明らかにされ、雲南省産マツタケと日本産マツタケが遺伝的に極めて近縁であると推測された。

2. 根圏微生物間の相互作用解明

- ・無葉緑素植物であるシャクジョウソウ科3種の菌根の形態観察を行なった。その結果、シャクジョウソウではキシメジ属、アキノギンリョウソウとギンリョウソウではベニタケ科の菌がそれぞれ特異的に菌根を形成し、菌根菌を介して林冠の外生菌根性樹木と関係することが明らかにされた。さらに、ギンリョウソウでは、種子の埋土実験により、発芽の初期段階から菌根菌が定着する共生発芽植物であることが明らかにされた。

3. 外生菌根菌類群集、特にアカマツ - マツタケ共生系の特性解明

- ・小石川樹木園において、植栽した苗木の細根の動態についてデジタルマイクロスコプを用いて非破壊的に観察した結果、鮮明な映像が得られる改良点が明らかにされた。
- ・マツタケの人工シロ移植方法について検討を加えた結果、石英砂を用いることによって外周土壌からの微生物侵入量を抑えることが可能となった。
- ・大型の苗木を用いて継続的に根圏共生系を明らかにするために、非無菌条件下におけるアカマツ - マツタケ共生系の構築を試みた。外生菌根共生系を構築するための培土を選抜し、実生あるいは大型苗木へマツタケ菌を接種した結果、いずれも接種3ヶ月後までにマツタケ外生菌根の形成が認められた。
- ・約50年生のアカマツ成木から外生菌根フリー細根の誘導およびマツタケ菌の接種を試みたところ、接種5週間後にマツタケ外生菌根の形成が認められた。

4. 根圏共生系の機能動態の解明

- ・マツタケの菌根としての機能を明らかにするために、無菌条件下の培養系を用いて、マツタケ菌根が宿主の生理機能に及ぼす影響を調査した。その結果、マツタケ菌の接種によりアカマツの成長量と光合成速度が増加することが明らかにされ、アカマツ - マツタケ外生菌根が生理的に大きな役割を果たしていることが推測された。
- ・松枯れの被害度の異なる林分における外生菌根菌類相の調査から、松枯れの推移と外生菌根菌類相の推移に相関のあることが明らかにされた。

特記事項（これまでの研究において得られた、独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、学問的・学術的なインパクト等特記すべき事項があれば記入してください。）

根圏共生は地下部での現象であるため、根圏全体における樹木と複数の共生微生物群を含む共生系内部における関係については、ほとんど未解決のままであった。また、共生菌であるマツタケなどの人工的な菌根形成手法やその機能に関する具体的な知見はほとんどなかった。

本研究では、大型ライゾトロン利用、無菌および非無菌条件下での外生菌根共生系の構築法の確立、分子生物学的手法の利用などの新たな手法を導入することにより、以下のような新たな知見を得ることができた。

1. 森林における根圏共生系の全体像把握

これまで、森林の一次遷移初期過程における外生菌根菌群集に関する詳細な研究はなかった。本研究では一次遷移初期過程における外生菌根菌群集を初めて示しただけでなく、宿主の成長に伴って共生する菌根菌の種が変遷することを明らかにした。このように外生菌根菌の一次遷移系列を示したことについては、既に国際的にも高い評価を得ている。

また、本研究により、宿主が大きく異なる日本産マツタケと雲南省産マツタケが、遺伝的に極めて近縁であることが明らかにされた。マツタケが広葉樹と外生菌根を形成する例は初めてであり、マツタケの生態を考える上で非常に重要な知見である。また、遺伝的に近縁である両地域のマツタケの宿主が、針葉樹と広葉樹に大きく異なることが明らかにされたことは、宿主植物と外生菌根菌との共生関係の進化を考える上でも、非常に新しい知見である。

2. 根圏微生物間の相互作用解明

日本産シャクジョウソウ科の菌根菌の高次分類群を初めて明らかにした。また、菌根から多数の培養菌株を得て外生菌根性樹木との菌根合成に成功したが、これも世界的に数少ない成功例の1つである。さらに、ギンリョウソウにおける共生発芽の詳細な観察例は、世界初である。以上の研究成果により、森林生態系における複雑な共生系の存在意義について、根圏菌類群集を中心に実験証拠から説明できることが期待される。

3. 外生菌根菌類群集、特にアカマツ - マツタケ共生系の特性解明

培土の選抜および接種方法の検討により、非無菌条件下において簡便かつ効率的なマツタケ菌根合成方法を確立した。非無菌条件下におけるマツタケ菌根の合成は、本研究が初めてであり、マツタケの人工栽培法の確立への大きな前進であると考えられる。さらに、実生、大型苗木、成木の3種の生育段階のアカマツにマツタケ菌根を合成させることが可能であったことから、アカマツ - マツタケ共生系の生理・生態を解明する上でも、本法は非常に有効である。

4. 根圏共生系の機能動態の解明

アカマツとマツタケとの関係は、季節により腐生的、寄生的、共生的な性質があると従来指摘されており、その生理的性質は不明であった。本研究により、マツタケ菌の感染がアカマツの成長や光合成を促進することが明らかにされ、マツタケがアカマツと相利共生的な関係を構築していることを生理的な面から初めて示すことができた。

一方、本研究において、松枯れの推移と外生菌根菌類相の推移に相関のあることが明らかにされた。森林衰退や松枯れなどの影響と外生菌根との関係については、世界的に注目されているところであり、本研究で得られた成果は、その関係を解明する上で重要な知見となる。

研究成果の発表状況 (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(発表予定のものを記入することも可能。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会等における発表状況について記入してください。)

[論文]

英賀慶彦・佐々木廣海・松下範久・丹下 健・鈴木和夫 モミの成長,生理活性及び外生菌根に対する土壌酸性化の影響. 森林立地: 2004 (印刷中).

Guerin-Laguette, A., Vaario, L.-M., Matsushita, N., Shindo, K., Suzuki, K., Lapeyrie, F. Growth stimulation of a Shiro-like, mycorrhiza forming, mycelium of *Tricholoma matsutake* on solid substrates by non-ionic surfactants or vegetable oil. Mycological Progress 2: 37-44, 2003.

Guerin-Laguette, A., Shindo, K., Matsushita, N., Suzuki, K., Lapeyrie, F. The mycorrhizal fungus *Tricholoma matsutake* stimulates *Pinus densiflora* growth in vitro. Mycorrhiza: 2004 (in press).

Lian, C., Hogetsu, T., Matsushita, N., Guerin-Laguette, A., Suzuki, K., Yamada, A. Development of microsatellite markers from an ectomycorrhizal fungus, *Tricholoma matsutake*, by an ISSR-suppression-PCR method. Mycorrhiza 13: 27-31, 2003.

Lian C., Oishi R., Miyashita N., Nara K., Nakaya H., Zhou Z., Wu B., Hogetsu T. Genetic structure and reproduction dynamics of *Salix reinii* during primary succession on Mount Fuji, as revealed by nuclear and chloroplast microsatellite analysis. Mol. Ecol. 12: 609-618, 2003

Matsuda Y, Yamada A. Mycorrhizal association of *Monotropa globosum* collected from five different forests in central Japan. Mycologia 95: 993-997, 2003

Nara, K., Nakaya, H., Hogetsu, T. Ectomycorrhizal sporocarp succession and production during early primary succession on Mount Fuji. New Phytol. 158:193-206, 2003.

Nara, K., Nakaya, H., Wu, B., Zhou, Z., Hogetsu, T. Underground primary succession of ectomycorrhizal fungi in a volcanic desert on Mount Fuji. New Phytol. 159: 743-756, 2003.

奈良一秀 樹木とキノコの共生: イメージングプレートによって菌根共生を探る. Radioluminography 研究 23: 10-14, 2003.

Nara, K., Hogetsu, T. Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species. Ecology 85: 2004 (in press).

Vaario, L.-M., Gill, W.M., Samejima, M., and Suzuki, K. Detection of the ability of *Tricholoma matsutake* to utilize sawdust in aseptic culture. Symbiosis 34: 43-52, 2003.

Yamada, A., Kobayashi, H., Murata, H. *Tricholoma matsutake* IFO6933 and IFO30604, 'matsutake' isolates that have been maintained on slants and widely used in vitro for a quarter to half a century, can form ectomycorrhiza in *Pinus densiflora*. Mycoscience 44: 249-251, 2003.

Zhou, Z., Miwa, M., Nara, K., Wu, B., Nakaya, H., Lian, C., Miyashita, N., Oishi, R., Maruta, E., Hogetsu, T. Patch establishment and development of a clonal plant, *Polygonum cuspidatum*, on Mount Fuji. Mol. Ecol. 12: 1361-1373, 2003.

[学会発表]

菊池研介・松下範久・鈴木和夫 SSR マーカーを用いたアマタケの遺伝構造の解析. 第 115 回日本林学会大会, 東京大, 2004.

菊池研介・松下範久・鈴木和夫 アマタケ SSR マーカーの識別能力の検討. 日本菌学会第 48 回大会, 長崎シーボルト大, 2004.

北村大星・山田明義 無葉緑ギンリョウソウは, 種子発芽の初期から菌根菌との関係を持つ. 日本菌学会第 47 回大会, 北海道大, 2003.

松田陽介・北村大星・山田明義 ギンリョウソウに形成されたモノトロポイド菌根の形態的, 分子生物学的類別. 日本菌学会第 47 回大会, 北海道大, 2003.

松下範久・ゲレン アレクシ・進藤克実・鈴木和夫 アカマツ成木からの細根の誘導と外生菌根の人工合成. 第 114 回日本林学会大会, 岩手大, 2003.

松下範久・ゲレン アレクシ・進藤克実・加計康晴・鈴木和夫 自然条件下におけるアカマツ成木へのマツタケおよびアカハツの接種. 日本菌学会第 47 回大会, 北海道大, 2003.

松下範久・進藤克実・菊池研介・ワーリオ禄敏・鈴木和夫 中国雲南省に生育するマツタケの rDNA 領域の多様性. 第 115 回日本林学会大会, 東京大, 2004.

奈良一秀・宝月岱造 富士山の一次遷移において先駆樹木実生の成長を支える菌根菌群集構造. 第 114 回日本林学会, 岩手大, 2003.

Nara, K. Above- and below-ground primary succession of ectomycorrhizal fungi in a volcanic desert on Mt. Fuji. The 4th international conference on mycorrhizae, Montréal, Canada, 2003.

奈良一秀 富士山火山荒原の先駆木本植物ミヤマナギに対する外生菌根菌の宿主特異性: 様々な植生遷移段階から分離した多様な菌株を用いて. 第 115 回日本林学会大会, 東京大, 2004.

大崎 学・松下範久・鈴木和夫 マツタケ外生菌根形成に及ぼす土壌水分の影響. 第 115 回日本林学会大会, 東京大, 2004.

進藤克実・ゲレン アレクシ・松下範久・鈴木和夫 自然条件下におけるアカマツ - マツタケ共生系の構築. 第 115 回日本林学会大会, 東京大, 2004.