

## 森林樹木種および外生菌根菌種の網羅的分子遺伝解析と分子生態データベースの構築

Exhaustive molecular genetic analysis and molecular ecology database construction of tree and ectomycorrhizal fungal species.

宝月 岱造 (HOGETSU TAIZO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



### 研究の概要

- ① 分子生態学解析に必要な核マイクロサテライトマーカの新製方法を確立した。確立した方法を用いて、多数の植物種、外生菌根菌種のマーカを作製した。
- ② マイクロサテライトマーカを用いた分子生態学解析により、北方林樹木やマングローブ林樹木など多様な植物種の多様な繁殖様式を明らかにした。
- ③ 森林の主要な共生菌類である外生菌根菌について、核マイクロサテライトマーカ等による分子生態学解析を行い、通常私たちの目に触れることのない森林の地下での繁殖特性を明らかにした。
- ④ 葉緑体マイクロサテライトマーカを用いて、マングローブ林樹木などいくつかの樹種で、広い地域での遺伝地理的分化を明らかにした。
- ⑤ 本研究では、新たなマーカの塩基配列や繁殖特性など、大量の森林樹木および外生菌根菌に関する分子生態情報を蓄積した。この蓄積は、今後、将来世代のための分子生態データベース構築への取り組みに弾みを付けるはずである。

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：資源保全学・資源保全学

キーワード：マイクロサテライト、SSR、葉緑体 DNA、繁殖生態、遺伝地理、共生菌類

### 1. 研究開始当初の背景

樹木およびその生長を支える外生菌根菌の繁殖機構についての情報は、森林の保全や再生を考える上では不可欠なものである。一方、樹木種の遺伝地理的情報は、最終氷期以降の温暖化といった過去の気候変動を様々な形で反映しており、深刻な地球温暖化に直面するであろう将来の人々にとって極めて重要なものである。しかし、それらの情報は必ずしも十分に蓄積されていない。

森林樹種および外生菌根菌種の繁殖機構の情報や樹木の遺伝地理に関する情報は、森林保全や再生の基盤となる基本データとして重要であるとともに、将来の研究者にとっては、彼らの時代と過去との比較を可能にする極めて貴重な遺産になるはずである。現時点でこのような情報を蓄積することは、将来の世代に対する私達の緊急かつ重要な責務といえる。

### 2. 研究の目的

森林を構成する樹木や菌類の繁殖を比較的狭いスケールで考えると、それぞれの種は、固有な花粉散布機構、種子散布機構、胞子散布機構等の繁殖機構に基づいて、個体群を維持していると見ることができる。また広いスケールで考えると、それぞれの繁殖機構に基づいて、固有な遺伝地理的構造を形作っていることが予想される。本研究では、核 DNA および葉緑体 DNA のマイクロサテライトマーカを用いて、樹木と外生菌根菌の狭いスケールでの繁殖特性と、樹木の広いスケールでの遺伝地理的構造とを、出来るだけ多数の種に関して解析する。前者では、各樹種の花粉散布機構、種子散布機構等を明らかにする。菌根菌に関しては、各菌種の胞子散布機構や地下群集構造を明らかにする。また後者では、葉緑体 DNA の多型解析により、広い地域での樹木の遺伝分化状況を明らかにする。

これらの解析により、多数の樹種や菌種

の繁殖機構と遺伝地理的構造とを明らかにし、将来世代のための分子生態データベース構築に先鞭を付ける。

### 3. 研究の方法

野外から樹木および外生菌根菌の試料を採集し、核マイクロサテライトマーカーと葉緑体マイクロサテライトマーカーによる多型解析、rDNA マーカーによる菌種同定を行う。それらの結果から、それぞれの樹種、菌種の生態的繁殖特性や遺伝地理的特徴を推定する。

### 4. 研究の主な成果

- (1) 汎用性の高い新たな核マイクロサテライトマーカー作製方法を複数確立し、公表した。なお、この成果に関連して「第6回日本 DNA 多型学会優秀研究賞」および「Journal of Plant Research Most-Cited Paper Award 2009」を受賞している。
- (2) 北方林樹木、マングローブ林樹木について対象樹木種の核および葉緑体マイクロサテライトマーカーを用いて多型解析を行い、花粉散布、種子散布のパターンや範囲等、各樹種の生態的繁殖特性を明らかにした。また、新たな数理モデルを考案、適用して花粉散布パターンを定量化した。
- (3) 富士山火山荒原に生育する外生菌根菌種やマツタケ菌の生態的繁殖特性を明らかにした。また、地下部群集構造も明らかにした。その結果、森林地下部では多数の外生菌根菌種が割拠しており、しかもダイナミックに変動している姿が浮き彫りになった。また、外生菌根菌の新たな生態機能も見いだした。なお、成果に関連して「平成22年度日本農学賞」および「平成22年度読売農学賞」を受賞している。
- (4) マングローブ林樹木等について、葉緑体マイクロサテライトの多型解析により樹木の遺伝地理的特徴を明らかにした。

### 5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

- (1) 本研究で確立した核マイクロサテライトマーカー作製方法は、極めて汎用性が高く、大きなインパクトを世界に与えた。実際、樹木や菌根菌のみならず、これまでに草本植物、高等動物、昆虫、線虫、藻類、プランクトン、病原菌等、多数の生物種のマーカー作製に利用されている。
- (2) 核マイクロサテライトマーカーおよび葉緑体マイクロサテライトマーカーの両者を組み合わせて行った樹木の分子生態研究は殆どなく、本研究は分子生態学に新

たな研究方法を導入したと言って良い。

- (3) 本研究は、世界における外生菌根菌の地下部の分子生態学的解析をリードするものであり、大きなインパクトを世界に与えた。実際、英国の国際誌 *New Phytologist* 誌の研究紹介コラム (Commentary 欄) に計4回紹介されている。
- (4) 樹木の遺伝地理研究では、葉緑体マイクロサテライトマーカーを用いているが、このマーカーはこれまで少数の研究グループでのみ使用されてきた。本研究の中でその有効性が裏付けられたことから、このマーカーが今後の研究に広く使用されるものと予想される。
- (5) 以上、本研究のインパクトは極めて大きく、今後の分子生態データベース構築への取り組みに弾みを付けるものである。

### 6. 主な発表論文

1. Nara K, Hogetsu T (2004) Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species. *Ecology* 85: 1700-1707
2. Lian CL, Narimatsu M, Nara K, Hogetsu T (2006) *Tricholoma matsutake* in a natural *Pinus densiflora* forest: correspondence between above- and below-ground genets, association with multiple host trees and alteration of existing ectomycorrhizal communities. *New Phytologist* 171:825-836
3. Lian C, Goto S, Kubo T, Takahashi Y, Nakagawa M, Hogetsu T (2008) Nuclear and chloroplast microsatellite regeneration on fallen logs in a sub-boreal forest in Hokkaido, Japan. *Molecular Ecology* 17:2948-2962
4. Geng Q, Lian CL, Goto S, Tao J, Kimura M, Islam MS, Hogetsu T (2008) Mating system, pollen and propagule dispersal, and spatial genetic structure in a high-density population of the mangrove tree *Kandelia candel*. *Molecular Ecology* 17:4724-4739
5. Wu B, Kurokochi H, Hogetsu T (2009) Development of 12 microsatellite markers in *Euptelea polyandra* by a random tailed genome-walking method using Phi29 DNA polymerase. *Conservation Genetics Resources* 1: 59-61