

# 外生菌根菌の定着および分布拡大に対する宿主の影響評価

杉山賢子

## 要約

本論文では、森林における植物の重要な共生菌である外生菌根菌を対象に、その定着や分布拡大に宿主がどのような影響を及ぼしているかという疑問の解明を目指している。外生菌根菌はマツ科、ブナ科など森林で優占する樹種と相利的な共生関係を結ぶ菌類の機能群である。外生菌根菌は世界中に約20,000から25,000種存在すると推定されており、一方の宿主となる植物は約6,000から8,500種が報告されている。これらの宿主樹種の中で共生できる宿主は菌の系統あるいは菌種ごとに異なっており、このように、外生菌根菌種によって共生できる宿主の系統群が限定される現象を外生菌根菌の宿主特異性と呼ぶ。また、共生できる宿主の系統的な範囲は宿主範囲と呼ばれている。宿主特異性を持つ外生菌根菌において、その定着や分布は宿主による影響を強く受けることが知られている。これまで、局所スケールから全球スケールまで、空間スケールを跨いで多くの研究で外生菌根菌の分布に対する宿主の影響が示されてきた。しかし、宿主が外生菌根菌の分布に及ぼす影響については不明な点も残されている。本論文では (1) 明確な宿主特異性のない外生菌根菌の全球分布に対する宿主の影響 (第2章)、 (2) 外生菌根菌と宿主の間での生物地理的背景の違いが共生可能性に及ぼす影響 (第3・4章)、 (3) 宿主が非生物要因を介して外生菌根菌の定着に及ぼす影響 (第5章) について研究を行うことで、外生菌根菌の定着や分布拡大に対する宿主の影響について理解を進めることを目的とした。

第2章では、裸子植物と被子植物両方と共生できる宿主範囲の広い外生菌根菌であっても、その全球分布が宿主による影響を受けているのかを検証した。まず、シラビソとシラカバの優占する岐阜県高山市胡桃島国有林で土壌コアの採集を行い、根

端サンプルに含まれる外生菌根菌と植物のバーコード配列を解読した。得られた配列に対し、アメリカ国立生物工学情報センター (NCBI) の配列データベースで類似配列を検索することで菌種と宿主種の分子同定を行った。この際、外生菌根菌については菌の検出された宿主種の情報も同時に取得した。その結果、胡桃島国有林で採取された外生菌根菌は、これまでに裸子植物のみから得られている41個の操作的分類群 (OTU)、被子植物のみから得られている43個のOTU、および被子植物と裸子植物両方から得られている宿主範囲の広い248個のOTUに分類された。これらのOTUに対して階層ベイズモデルを用いた全球規模での分布推定を行なったところ、宿主範囲の広い外生菌根菌の分布確率は年平均気温が低く、日本から近く、マツ科とカバノキ科の分布する地域で高いという結果が得られた。推定された分布域は被子植物あるいは裸子植物いずれかのみと共生するOTUと比べて両方と共生するOTUで広く、両方と共生するOTUは植物区系の全北区全域で高い分布確率を示した。これらの結果から、宿主範囲の広い外生菌根菌では裸子植物と被子植物いずれかのみと共生する外生菌根菌に比べて分布範囲が広い可能性があるものの、宿主範囲の広い菌種であっても宿主により分布が制限されていることが示された。この結果から、宿主の系統関係以外にも何らかの宿主側の性質によって外生菌根菌の定着や分布が制限されている可能性が考えられる。

第3章では、外生菌根菌を複数の宿主種に接種する実験を行うことで、宿主の系統関係以外に外生菌根菌と宿主の共生可能性に影響を与える要因の解明を試みた。ここでは、特に宿主と外生菌根菌の生物地理的背景に着目し、生物地理的背景の異なる組み合わせでは共生関係が構築されにくい (以下、生物地理的特異性と表現) という仮説を立て、この仮説について検証した。仮説の検証のため、本章では東アジアに分布する樹種であるコナラ (ブナ科) と共生する外生菌根菌の胞子を、同じく東アジアに分布する樹種のコナラ、スダジイ (ブナ科)、クロマツ (マツ科) と、主にオーストラリアに見られる樹種であるユーカリ属 (フトモモ科) 2種の滅菌実生 (各24個体) にそれぞれ接種し、感染の有無を確認した。実験の結果、コナラとスダジイでは

全生残実生で外生菌根菌の感染が確認されたのに対し、クロマツでは半数程度で感染が確認され、ユーカリ2種ではほとんど感染が確認されなかった。感染していた外生菌根菌種数はコナラとスタジイで最も多く、次いでクロマツ、ユーカリ2種の順に減少した。また、コナラとスタジイに感染していた外生菌根菌の一部がクロマツに感染しており、さらにその一部がユーカリに感染しているという入れ子構造が確認された。これらの結果から、被子植物と裸子植物の両方に感染する宿主範囲の広い外生菌根菌であっても感染できない宿主が存在すること、特に、外生菌根菌は自身と生物地理的背景の異なる宿主には容易に感染できないことが示された。

第4章では、第3章の室内実験で得られた結果を裏付けるため、生物地理的特異性が野外においても確認されるのかを検証した。ここでは、兵庫県神戸市立王子動物園に植栽されているユーカリと在来宿主（コナラ属4種とクロマツ）それぞれに対して菌根サンプルのバーコード配列を解読することで、感染している外生菌根菌相を調査した。その結果、ユーカリ52サンプルからは7個、在来樹種24サンプルからは41個の外生菌根菌OTUが得られた。これらの外生菌根菌OTUのうち、ユーカリと在来樹種で共有されていたOTUは1つのみであった。また、得られた外生菌根菌OTUそれぞれに対して、NCBIデータベース、UNITEデータベースおよびGlobalFungiデータベースを参照して相同配列の得られている地域を特定したところ、在来樹種から得られているOTUでは、相同配列が主に北アメリカ、中国や日本といった全北区に区分される国々から得られていたのに対して、ユーカリから得られたOTUはユーカリの自生地であるオーストラリアやユーカリの自生しない南半球の国々から得られており、日本在来の外生菌根菌ではないことが示された。これらの結果から、王子動物園のユーカリにはユーカリと同じような地理的起源を持つ外来外生菌根菌が感染しているのに対して、周辺の在来樹種には在来外生菌根菌が感染しており、野外の林においても生物地理的特異性が感染の制限要因となっていることが示された。第3章と第4章の結果を踏まえると、第2章の結果についても解釈が可能となる。すなわち、宿主範囲の広い外生菌根菌であってもその全球分布が宿主による影響を受けるという結果は、全北区に広く見ら

れるマツ科やカバノキ科に対する生物地理的特異性を反映した結果として解釈することができる。本研究の結果は、外生菌根菌の分布に対する宿主の影響を明らかにするためには、宿主の系統関係に着目するだけでなく、生物地理的特異性による影響についても解明を進めていくことが重要であることを示している。

第5章では、日本列島スケール (~およそ1,000 km) でブナ林の外生菌根菌群集を調査し、先行研究で得られているスダジイ林のデータと比較することで、宿主の違いが外生菌根菌群集構造の空間変動パターンとその駆動要因に影響するのかを検証した。国内15か所のブナ林と12か所のスダジイ林の外生菌根菌群集を調べた結果、ブナ林からは外生菌根菌OTUが全部で321個、スダジイ林からは433個得られた。これらのOTUのうち、それぞれ2か所以上の調査地で共通して見られたOTUの割合は、スダジイ林よりもブナ林で高く、ブナ林ではスダジイ林に比べて群集組成の空間的なばらつきが小さいことが示された。また、群集構造の空間変動パターンに対する気候・土壌・空間要因の影響について解析したところ、ブナ林の外生菌根菌群集では気候・土壌要因が空間変動パターンの駆動要因として選ばれたのに対し、スダジイ林では空間・土壌要因が選択された。本章の結果は、異なる宿主に共生する外生菌根菌群集の間で空間変動パターン及び、その駆動要因が異なる可能性を示すものであり、宿主が非生物要因への応答を介して間接的に外生菌根菌の定着に影響を与えていることを示唆している。

本研究では、宿主の由来する植物区系の違いが外生菌根菌の感染可能性及び宿主による分布拡大の制限に影響しているという知見と、外生菌根菌の分布は宿主による間接的な影響も受けているという知見の2つの新たな知見を提示した。いずれについてもその一般性については今後さらなる検証が必要ではあるものの、外生菌根菌の定着や分布を題材とした研究分野において重要な概念になっていくと考えている。