絶滅危惧樹木の保全に不可欠な菌根菌の系統分類と菌株コレクションの構築

〇奈良一秀（東京大学・大学院新領域創成科学研究科）

はじめに

■ 絶滅危惧樹木にのみ共生する菌根菌が存在(Murata et al. 2013, Mujic et al. 2014, Murata et al. 2017a, Sugiyama et al. 2018)

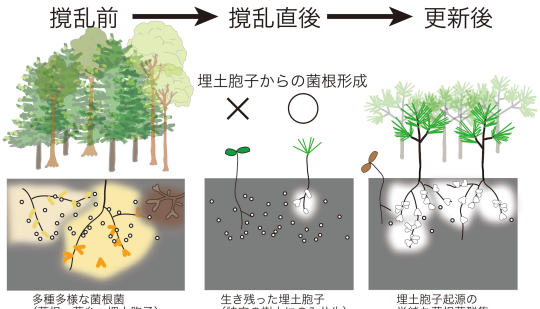
トガサワラ (*Pseudotsuga japonica*) 日本固有種 紀伊半島と高知にのみ生育 絶滅危惧種（EN）

トガサワラショウロ(菌根) (*Rhizopogon togasawarius*) トガサワラにのみ共生 絶滅危惧種の要件に該当

ヤクタネゴヨウ (*Pinus amamiana*) 日本固有の５葉マツ 屋久島と種子島にのみ生育 絶滅危惧Ⅰ B類（EN）

ヤクタネショウロ（菌根） (*Rhizopogon yakushimensis*) ヤクタネゴヨウにのみ共生 絶滅危惧種の要件に該当

■ トガサワラショウロとヤクタネショウロはいずれも埋土胞子として最も優占し、撹乱後の宿主実生の更新に中心的役割(Murata et al. 2017a, 2017b)



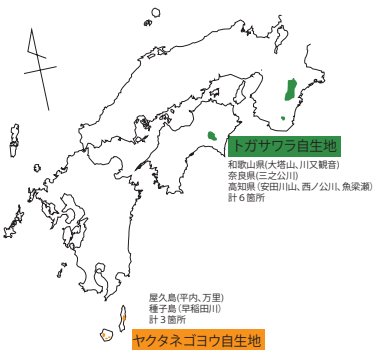
■ どちらの絶滅危惧樹木もこの特異的菌根菌が存在しないと生き残ることはできないであろう

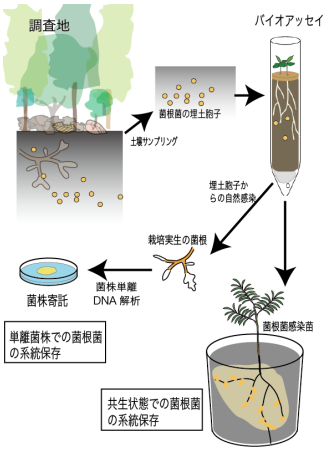
目的

■ トガサワラショウロとヤクタネショウロの系統および集団遺伝構造を明らかにし、それぞれの絶滅リスクを把握する

■ 絶滅のリスクが高いと思われる両菌種の菌株を分離し、カルチャーコレクションとして整備することで保護する

調査地と方法





■ 主要な残存林から網羅的に土壌をサンプリング

- 全生息域を対象にした研究
- ショウロ属の胞子は少なくとも数十年は土壌中に休眠すると考えられている

■ 系統: ITS領域の分子系統解析

- 菌類の種レベルの系統関係を調べるのに最適な領域

■ 集団遺伝: マイクロサテライト解析

- 独自のSSRマーカー開発
- 種内の遺伝構造を調べるのに最適な領域
- 宿主についても解析し比較

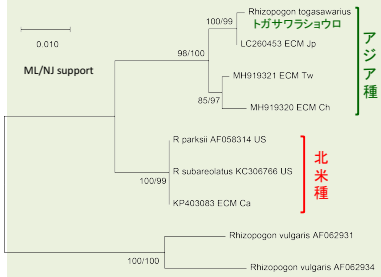
■ 埋土胞子から宿主実生で釣り上げるバイオアッセイ

- 通常、菌根菌の分離に使われる子実体（キノコ）はほぼ採集不可能、埋土胞子の利用に挑戦
- 長期間培地上で継代保存すると菌根形成能力が低下する場合があるため、苗と共生状態で保存することに挑戦

バイオアッセイの様子

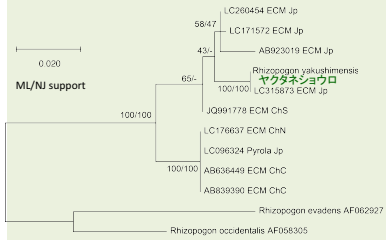
調査地と方法

■ 系統進化と生物地理



トガサワラショウロと近縁種の系統関係（ITS領域, ML）

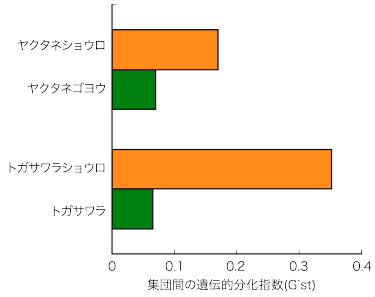
- トガサワラ属に特異的なショウロ属は単系統、アジアの共通祖先は宿主と共に北米から3200万年前に渡ってきたと考えられる
- 系統距離から推定すると、中国本土（左図Ch）の菌種とは約1760万年前、台湾（Tw）の菌種とは約1450万年前に分化したと考えられる
- 宿主とともに１千万年以上の独自進化を遂げた保全価値の高い菌種であろう



ヤクタネショウロと近縁種の系統関係（ITS領域, ML）

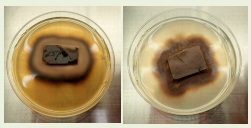
- 国内のマツの菌根（左図 ECM Jp）として見つかった他の菌種と1800万年以上前に分化したと考えられる
- 中国南部で検出された菌種（Ch S）とは約2千万年前に分化したと考えられる
- 地質学的な証拠によって、約2000万年前から1500万年前に日本海が拡大して日本列島が形成されたと考えられており、トガサワラショウロもヤクタネショウロもその時に大陸の共通祖先種と別れて独自に進化したのだろう

■ 集団間の遺伝的分化



- 集団間の遺伝的分化は絶滅危惧種に指定されている宿主樹木よりも菌根菌でさらに高い値
- いずれの菌種も集団間の遺伝子流動がほとんどないことを示唆。宿主の花粉が風散布なのに対し、両菌種とも小動物に胞子散布を依存しているため、より強い移動制限
- 隔離された小集団内で近親交配が進行し絶滅に至るリスクは菌根菌の方が高いと考えられる
- IUCNのレッドリスト登録を申請中

■ 菌株の単離・寄託



Name of biological material(s) (Strain ID)	NBRC number	Date of acceptance
(1) *Rhizopogon yakushimensis* (Rhizopogon Y2-21 No. 199)	NBRC 113761	January 17, 2019
(2) *Rhizopogon yakushimensis* (Rhizopogon Y1-3 No. 196)	NBRC 113762	January 17, 2019
(3) *Rhizopogon yakushimensis* (Rhizopogon T-1 No. 200)	NBRC 113763	January 17, 2019
(4) *Rhizopogon togasawariana* (Rhizopogon togasawariana No. 193)	NBRC 113764	January 17, 2019

- トガサワラショウロは２１菌株、ヤクタネショウロは１１菌株の単離に成功
- 異なる集団から得られた菌株をNBRCへ寄託・公開

- 埋土胞子からの菌株取得方法は発展性がある（子実体が得難い菌株への応用）
- 絶滅危惧菌種の保存というカルチャーコレクションの新たな役割の可能性

■ 樹木に共生させた状態での菌株維持

- 菌根菌の感染により明らかな宿主の成長促進作用
  →宿主の保全に不可欠
- 苗と共生させた状態での２年間の維持に成功、他菌種の感染なし
  →菌根菌株の新たなコレクション方法として可能性
- ポット中に子実体が形成されれば埋土胞子として保存や交配育種も可能

引用文献
Mujic et al. 2014 (DOI: 10.3852/13-055) , Murata et al. 2013 (DOI: 10.1007/s00572-013-0504-0) , Murata et al. 2017a (DOI: 10.1371/journal.pone.0189957), Murata et al. 2017b (DOI: 10.1007/s11284-017-1456-1), Sugiyama et al. 2018 (DOI: 10.1016/j.myc.2017.10.001)

謝辞
本研究を行うにあたり、調査許可をいただいた林野庁、奈良県川上村、屋久島森林生態系保全センターに御礼申し上げます。実験・解析は村田政穂博士、阿部寛史、杉山賢子、大嶋健資によって行われました。現地調査では金谷整一氏、手塚賢至氏、斎藤俊浩氏にご協力をいただきました。
本研究は発酵研究所大型研究助成に加え、科学研究費補助金によって行われました。