

外生菌根菌ネットワークの構造と機能

誌名	土と微生物
ISSN	09122184
著者名	宝月, 岱造
発行元	土壌微生物研究会
巻/号	64巻2号
掲載ページ	p. 57-63
発行年月	2010年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



特別講演

外生菌根菌ネットワークの構造と機能

宝月岱造*

東京大学農学生命科学研究科, 〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1

Structure and function of ectomycorrhizal networks

Taizo Hogetsu*

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, the University of Tokyo,
1-1-1, Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8657, Japan

1. はじめに

樹木苗の根に外生菌根菌の分離菌株を人工接種すると、外生菌根が形成されて苗の養分吸収能力が高まり成長が目に見えて促進されることが、様々な樹種と菌種の組合せで観察されている(図1)。また、野外での植林でも、外生菌根菌との共生が欠如していたために失敗に終わった例、外生菌根菌を導入したことにより成功した例が、いくつも報告されている(Kessel, 1927; Björkman, 1970; Marx, 1980)。自然の森林でも、多くの樹木が外生菌根菌と共生していることから、外生菌根共生によって森林内の多くの樹木の成長が促進されていると想像されている。外生菌根菌は、樹木の成長促進を通して、森林の維持や発達を支える重要な役割を、地面の下で密かに担っているのだろう。

根箱に菌根菌感染苗と未感染苗を並置すると、感染苗の菌根から菌糸体(根外菌糸体)が発達し、同じ根系の別の細根や異なる樹木の細根に達して新たな菌根を作る。そして、そこから再び新たな根外菌糸体が発達する。その繰り返しの結果、多数の菌根を互いに繋いだ菌糸のネットワーク構造が形成される。実際の森林林床下でも同様のことが起って、同一根系内の根や異なる樹木の根が菌糸で繋がり、結果的に複数の樹木の菌根を繋ぐ菌糸のネットワークが形成されていると想像されている。しかし、樹木と外生菌根菌の共生が地下で起こるため調べにくいこと、菌根の外見からではそれを形成している菌種(本稿では菌根形成菌種と呼ぶ)の同定が難しいことなどから、この菌糸のネットワークが実際の森林でどのように構築・維持されているのか、またどのような生態的機能を発揮しているのか、ごく最近まで詳細は分かっていた。しかし、近年分子生物学やその他の分野の研究技術が飛躍的に進歩したのに歩調を合わせ、菌糸のネットワークが実際の森林の地下部でどのように始まり拡大し機能しているのかが、少しずつ明らかになりつつある。本稿では、地下における外生菌根菌の菌糸ネットワークの構造的特徴と生態機能について、筆者らのグループの研究を例に引きながら

最近の知見を紹介する。なお、この菌糸のネットワークは、Arbuscular 菌根菌と合わせて菌根菌ネットワーク(mycorrhizal network; MN)、あるいは複数の宿主を繋いでいることを強調して共通菌根菌ネットワーク(common mycorrhizal network; CMN)と呼ばれる場合が多いが、本稿では外生菌根菌に限定して、外生菌根菌ネットワーク(ectomycorrhizal network; 以下 EM ネットワーク)と呼ぶことにする。

2. 外生菌根菌ネットワークの構造

1) 外生菌根菌ネットワーク構成菌種の多様性

EM ネットワークの菌種構成に関する研究では、林床に発生するキノコが地下の EM ネットワークを反映しているという仮定のもとに、発生する外生菌根菌のキノコの菌種構成や量を調査して地下部を推定するのが主流であった。しかし、1990年代になってから分子的手法による EM ネットワークの研究が進み、発生するキノコの菌種組成や量と、EM ネットワークの菌種組成や量が一致しないことが次々に報告されるようになった。その後、地下部の菌根形成菌種を直接同定して EM ネットワークの構造を明らかにしようとする研究が

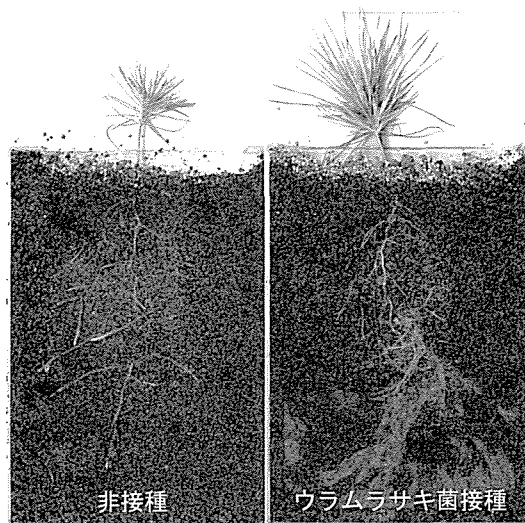


図1 外生菌根菌接種による宿主成長の促進の一例
アカマツ苗にウラムラサキ菌を接種後、根箱で2ヶ月間栽培。写真: 呉炳雲博士提供。

2010年6月1日受付・2010年6月23日受理

* Corresponding author.

E-mail: ho@fr.a.u.tokyo.ac.jp

行われるようになり、今日に至っている (Horton and Bruns, 2001)。最近の研究では、採集した土壌試料中の根からランダムに菌根を採取して rDNA 中の ITS 領域を調べ、それをデータベースと比較して菌根形成菌種を同定する方法が主に採られている (Horton and Bruns, 2001; Peay *et al.*, 2010)。本来であれば、土壌中の根外菌糸体そのものも含めて調べるべきであるが、土壌中の根外菌糸体を直接定量する研究は現在までのところまだ少ない。

これまでに様々なタイプの森林で、EM ネットワークの菌種構成が調べられてきたが、おしなべて菌種多様性が高いという結果が報告されている。表 1 は、採集した土壌試料中の菌根形成菌種を分子的方法で同定し、その出現頻度等から全 EM ネットワーク中の形成菌種数を推定した研究報告をまとめたものである (Dickie, 2007)。これを見ても、全菌種数は数十から数百と、極めて多様であることが分かる。

表 1 は、もう一つ興味深い事実を示している。宿主の樹種数と共生菌種数との間に極めて明瞭な正の相関が見られることである。もし、どの宿主にも共通して同じような菌種が共生するとすれば、宿主が増えても共生菌種数はさほど変わらないだろうから、このことは、異なる宿主には異なる菌種が共生する傾向が強いこと、すなわちそれぞれの樹種に対し宿主特異性の強い菌種が優占的に共生することを示唆している。Ishida *et al.* (2007) は、秩父の針広混交林で宿主樹木ごとに根をたどって菌根を採集し、それらの形成菌種を調べた。その結果、それぞれの樹種に共生する外生菌根菌種には宿主親和性が見られ、宿主の系統的距離が離れるほど菌種構成の違いも大きいことを見いだしている。また、Smith *et al.* (2009) も、カリフォルニアのサビンマツと 2 種のコナラ属樹木が優占する森林で、それぞれの樹種の EM ネットワークの菌種構成を調べ、宿主特異性が比較的高い菌種が多くを占めていることを示している。外生菌根菌には宿主特異性が高い種 (スペシャリスト) と低い種 (ジェネラリスト) が知られており、一般的に特異性の低いジェネラリスト種が優占しやすいと考えられてきた (Horton and Bruns, 2001)。しかし、これらの報告は、むしろスペシャリストの方が優占していることを示唆

している。

EM ネットワークの菌種構成の研究は既に成立した森林での調査が多いが、一次遷移初期の火山荒原といった、森林が出来る以前の厳しい環境でも行われている。Nara *et al.* (2003 a, b) は、富士山御殿場口の火山荒原でキノコと EM ネットワークを調べた。ここは一次遷移のまっただ中にあり、スコリア荒原上に植生パッチが点々と成立している (注: 噴火の際噴出した直径 2 mm 以上の暗色で多孔質の岩石破片をスコリアと呼ぶ)。先駆木本種ミヤマヤナギの根には多数の外生菌根菌が形成されており、ミヤマヤナギが生育しているパッチには、外生菌根菌のキノコが多数発生する。通年でキノコを調べてみると、このような厳しい環境でも、20 種以上におよぶ外生菌根菌が見つかる。また面白いことに、未発達な小さなミヤマヤナギのあるパッチでは、クロトマヤタケ、ウラムラサキ、キツネタケの 3 菌種のキノコしか発生しないのに、発達したミヤマヤナギのパッチではそれらに加えて別の外生菌根菌のキノコも発生しており、ミヤマヤナギの発達に伴ってキノコを発生する菌種の数が増加して行く。また、地下で優占する外生菌根形成菌種を調べてもほぼ同様の変化が見られる。ここでは植生が一次遷移するだけでなく、地下の EM ネットワークもいわば遷移していることがわかる。

2) 外生菌根菌ネットワークの空間分布

これら多様な外生菌根菌種は、土壌中でどのような空間分布をしているのだろうか? 土壌コア試料中の菌根形成菌種を調べると、多数の地点のコアに共通して広く優占する菌種は希なことから、一般に地下では各菌根形成菌種がパッチ状に分布していると予想されてきた (Horton and Bruns, 2001)。Zhou *et al.* (2002) は、カラマツ林の林床に発生したハナイグチ菌のキノコ直下の土壌中で、外生菌根形成菌種の空間分布をより直接的に調べている。キノコ発生地点を中心に垂直に切った土壌断面を 10 cm の格子状に区切り、それぞれの格子から土壌を採集した。採集した土壌試料から菌根を集め、それらの菌根形成菌種を、ITS 領域の T-RFLP パターンをもとに異なる ITS タイプに分類した。図 2A は、土壌断面上の各格子中に優占する菌根形成菌の ITS タイプを図示したも

表 1 宿主樹種数と外生菌根形成菌種の多様性 (Dickie IA, 2007 から抜粋, 改変)

文 献	宿主樹種数	菌種数 (観察値)	菌種数 (推定値)
Ishida <i>et al.</i> (2007) <i>New Phytol</i> 174, 430-440	8	205	387*
Tedersoo <i>et al.</i> (2006) <i>Mycol Res</i> 110, 734-748	6	172	329*
Izzo <i>et al.</i> (2005) <i>New Phytol</i> 166, 619-630	4	101	207*
Dickie <i>et al.</i> (unpublished data)	4	125	194*
Luoma <i>et al.</i> (2006) <i>Can J Forest Res</i> 36, 2561-2573	4	101	145*
Toljander <i>et al.</i> (2006) <i>New Phytol</i> 170, 873-884	3	66	149*
Nara (2006) <i>New Phytol</i> 138, 619-627	3	36	37.3**
Walker <i>et al.</i> (2005) <i>Mol Ecol</i> 14, 829-838	2	75	143*
Kjeller (2006) <i>FEMS Microbiol Ecol</i> 58, 214-224	1	31	48.1*
Cline <i>et al.</i> (2005) <i>New Phytol</i> 166, 993-1009	1 (成木)	43	63.2*
Cline <i>et al.</i> (2005) <i>New Phytol</i> 166, 993-1009	1 (成木近傍の実生)	20	35.5*
Koide <i>et al.</i> (2005) <i>New Phytol</i> 166, 251-262	1	27	42.0*
Korkama <i>et al.</i> (2006) <i>New Phytol</i> 171, 815-824	1	34	46.5***
Saari <i>et al.</i> (2005) <i>New Phytol</i> 165, 295-304	1	16	19***

*Jackknife2による推定値。**Chao2による推定値。***Jackknife1による推定値。

の一例である。ITS タイプを菌種と見なせば、ここでも、多数の菌種が比較的小さな土壤断面に割拠している（20 菌種/m² 断面）。

外生菌根菌には、地表近くに菌糸マットを広範囲に形成する菌種も知られており、外生菌根菌の地下での分布状況は菌の種特性によって大きく異なっているのかもしれない。上で紹介したような比較的小さな領域に多数の菌種が割拠するパッチ状分布パターンがどの程度普遍的なのか、詳細スケールでのケーススタディをさらに積み重ねて検証する必要がある。

3) 外生菌根菌ネットワークの不安定性

さて、これらの EM ネットワークはどの程度安定しているのだろうか？図2のカラマツ林林床下の EM ネットワーク構造をもう一度見直してみよう。ハナイグチ菌の場合、掘採り年（1999年）に発生したキノコの直下ではハナイグチ菌（T2）の菌根が多数形成されていることが分かる。しかし、一年前にキノコが出来た場所の下では、もはやハナイグチ菌の菌根は優占していない。一年前にはそのキノコの下にもハナイグチ菌の菌根が多数形成されたはずだから、このことは、それらキノコの下に菌根が一年以内に消滅したことを意味している。キノコ発生後、その菌の地下の菌根が1年以内に消滅するという具象は、ワカフサタケ属菌でもフランスのグループによって同年に報告されている（Guidot *et al.*, 2001）。この現象の普遍性を検証するために、今後他の菌種についても同様の現象の有無を調べることが望まれる。

安定性に関連する調査例をもう一つ紹介しよう。Lian *et al.*（2006）は、マツタケが採れるアカマツ林でその地下部の菌根形成菌種を調べた。マツタケは、時としてリング状にキノコを発生し、いわゆるフェアリーリングを形成する（注：担

子菌には、マツタケ菌に限らずリング状にキノコを発生するものがあるが、イギリスの言い伝えに従って、このようなキノコのリングをフェアリーリング（妖精の輪）と呼ぶ。フェアリーリングの地下部では、シロと呼ばれる白く密に発達したマツタケ菌の菌糸体が、やはりリング状に発達している。シロはフェアリーリングとともに年々リングの外側へと移動して、直径が大きくなっていく。この時シロの内、中、外の菌根形成菌種を調べてみると、シロの内外では菌種の数は多いがマツタケ菌の菌根はなく、シロの中ではマツタケ菌の菌根が99%以上を占め他の菌種の菌根はほとんど見あたらない。仮にシロのすぐ外側の土壤中で定点観測したとすると、始めは多数の菌種の EM ネットワークが混在しているが、やがてシロが侵入してくると、元々菌根を作っていた菌種の EM ネットワークが消滅してマツタケ菌の菌根一色になり、シロが通りすぎると、潜んでいたマツタケ菌以外の多数の菌種が再び EM ネットワークを作り始めることになる。言い換えると、アカマツ林の EM ネットワークは、シロの通過に伴ってダイナミックに変化する。

一般に EM ネットワークの菌種構成がどのような条件の時にどのように変動するのかについては、研究例が未だ少なく今後の課題である。

4) 外生菌根菌ネットワークの拡大様式

それぞれの EM ネットワークは、どのように繁殖するのだろうか？外生菌根菌は孢子繁殖と菌糸繁殖で増える。孢子繁殖では、孢子由来の一次菌糸が融合して二次菌糸（2核菌糸）が出来、そこから二つの孢子の遺伝子型を合わせた新たな遺伝子型を持ったクローンが菌糸繁殖して発達する。菌糸繁殖では、栄養繁殖なので同一の遺伝子型を持った菌糸が伸展してクローンが広がっていく。従って、外生菌根菌のクローン

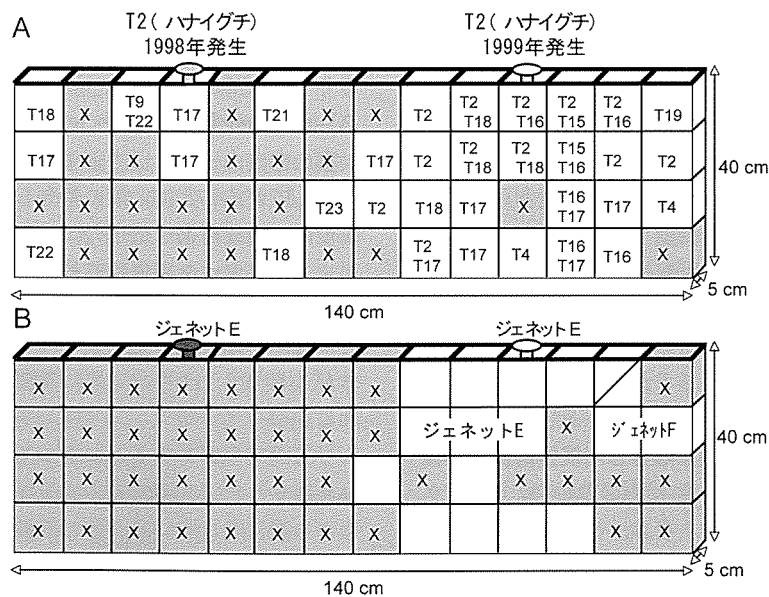


図2 ハナイグチ菌キノコ直下の外生菌根菌ネットワーク
 1999年に土壤を採集。上面が地表、前面が土壤断面。A：優占菌種の分布。T数字はT-RFLPタイプ。T2はハナイグチ菌。Xは菌が不検出。B：ハナイグチ菌ジェネットの分布。ジェネットFのキノコは、前年（1998年）に土壤断面から約1m離れた所に発生した。Xはハナイグチ菌が検出されなかった格子。Zhou *et al.*（2001）と Zhou *et al.*（2002）を改変。

の密度と大きさは、その菌の胞子繁殖と菌糸繁殖の程度を反映することになる。ジェネット（同一の遺伝子型を持つ菌根菌細胞の集合）をクローンと見なして、そのサイズや密度を調べれば、それぞれの繁殖様式の寄与を推定できる。また、個々のジェネットを「個体」とみなして、個体群の遺伝子型や対立遺伝子の頻度分布から、個体群間での遺伝子の動き（即ち胞子の散布状況等）の推定など、集団遺伝学的な解析も出来る。最近のジェネット解析では、マイクロサテライトと呼ばれる多型性が非常に高いゲノム中の部位を、遺伝子マーカーとして用いることが多くなっている。マイクロサテライトマーカーは、多型性が高いだけでなく共優性のPCRマーカーであり、ジェネットの同定だけでなくジェネット間の遺伝的關係を解析するのにも有効なマーカーである。種特異性が高いものが多いことも知られており、宿主根や共雑微生物のDNAを含んだ外生菌根のDNAを、そのまま菌根形成菌のPCR試料として取り扱う場合にも適している。

前述のカラマツ林のサンプルで調べたハナイグチ菌のジェネット分布を図2Bに示した。図から分かるように、この林では、ハナイグチ菌のキノコの下には、同一ジェネットのハナイグチ菌が作る菌根が多数局在している。またキノコの下で地下ジェネットの分布幅は数十cm程度の大きさであることが分かる。一方、ジェネットの密度も比較的高く（Zhou *et al.*, 1999）、この菌の場合、胞子繁殖も比較的頻繁に起こっていることが推測される。マイクロサテライトマーカーを用いた外生菌根菌のジェネット解析の研究はこの研究が初めてであるが、これ以降まだ十数種の菌種でしか報告されていない。

もう一つ、マツタケ菌ジェネットの研究例を見てみよう。上で述べたマツタケの研究の中で、Lian *et al.* (2006) は、作製したマツタケ菌のマイクロサテライトマーカーを用いて、上述のアカマツ林でマツタケ菌のジェネット解析を行っている。一つのフェアリーリングから発生したマツタケの遺伝子型を調べたところ、いくつかのジェネットからなること、また、同一ジェネットのキノコは、フェアリーリング内でもかたままって分布していることが分かった。更に、異なるフェアリーリング間では構成するジェネットの遺伝子型も異なっており、各リングは、それぞれ胞子繁殖から始まっていることも分かった。またこの研究では、マツタケ菌の菌根から抽出したDNAを、マツタケ菌とアカマツの両方のマイクロサテライトマーカーを用いてPCR増幅し、その菌根がどのアカマツ立木の根に由来するのかも同定している。その結果、同一のマツタケ菌ジェネットがそれぞれ複数のアカマツ立木に共生していることが明らかになった。このことは、実際の森林でも、一つの菌根から発した根外菌糸体が異なる樹木の根に感染して、複数の樹木間にEMネットワークを作っていることを裏付けている。なお、一つの外生菌根から菌のジェネットと宿主のジェネットの双方を同定した研究は、この研究が初めてのものである（Peter, 2006）。

マイクロサテライトマーカーを用いたジェネット解析は、上述の富士山火山荒原でも行われている。ミヤマヤナギの発達初期に共生するキツネタケとウラムラサキ（Wadud *et al.*, 投稿準備中）と後期に共生するハマニセシヨウロ（Wu *et al.*,

投稿準備中）のジェネットを、それぞれのマイクロサテライトマーカーを作製して調べてみると、キツネタケとウラムラサキではジェネットの大きさは数十センチ程度で、それに対してハマニセシヨウロのジェネットは大きいものが多いことが分かった。また、発生場所でのジェネットの密度は前者の方が高かった。このことは、両タイプの菌種とも胞子繁殖はするものの、キツネタケやウラムラサキの方がハマニセシヨウロよりも胞子繁殖が盛んであることを意味している。Ishida *et al.* (2008) は、この荒原で発生する外生菌根菌のキノコから胞子を採集し、キツネタケやウラムラサキの胞子発芽率がハマニセシヨウロに比べてずっと高いことを見いだしている。この結果は、ジェネット解析の結果、すなわち前者では胞子繁殖が盛んであることと良く対応している。外生菌根菌の胞子繁殖の程度は、遷移の進行段階と関連しているのかもしれない。

3. 外生菌根菌ネットワークの機能

1) 宿主樹木の成長促進機能

森林樹木と外生菌根菌との共生で形成されるEMネットワークが、どのような生態機能を果たしているかは、興味深い研究課題である。冒頭で述べたように、分離した外生菌根菌を樹木苗に接種すると、多くの場合苗の養分吸収能が高まり成長が促進される。このことから、実際の森林でも樹木がEMネットワークの元で外生菌根菌と共生すると宿主樹木の成長が促進され、その結果、森林全体の発達が促進されると考えられている。これがEMネットワークの直接的生態機能である。さらに、このような外生菌根菌の機能を前提に、EMネットワークの二次的生態機能に関する仮説がいくつか提案されている。そのうち、「EMネットワークは、その上に芽生えた実生の菌根菌感染を促進することを通して実生の定着や成長を助ける」、「異なる樹木が、両者を繋ぐEMネットワークを通じて光合成産物を交換し、互いに助け合っている」、という仮説について見てみよう。

2) 成木の外生菌根菌ネットワークによる実生感染の促進機能

富士山火山荒原では、ミヤマヤナギに多数の外生菌根菌が共生していることは、前に紹介した。この共生している外生菌根菌の培養菌糸を宿主のミヤマヤナギ実生の根に接種すると、ミヤマヤナギ実生の成長が菌種に応じて様々に促進される（Nara, 2006）。火山荒原のように厳しい環境では実生の定着は簡単ではないので、まずはこの直接的な成長促進作用自体が、ミヤマヤナギの定着に重要な生態的意味を持つと思われる。

一方、成木があることによって、近くに植えたり自然に芽生えたりした実生の定着や成長が促進されるという現象が古くから報告されている。その内のいくつかについては既にメカニズムが明らかになっているが、不明なものも多い。メカニズムに関する様々な仮説が唱えられているが、その一つとして、成木のEMネットワークの存在が実生への外生菌根菌の感染を早めるという仮説が提唱されている（Horton *et al.*, 1999）。Nara and Hogetsu (2004) は、富士山火山荒原での野外実験によって、一次遷移の進行にこのような現象が関

わっていることを実証した。野外実験では、菌根菌に感染していないミヤマナギの実生を温室で育て、それらをミヤマナギが生育する植生パッチの傍、ミヤマナギが生育していない植生パッチの傍、裸地など、条件の異なる場所に植栽して、その後の外生菌根菌の感染率と成長を調べた。その結果、裸地や宿主のいないパッチの傍らでは感染率が低いのに対して、宿主のいるパッチの傍らでは感染率も高く、また成長も良いことが分かった。このことは、この荒原ではミヤマナギ成木の EM ネットワークが、外生菌根菌のいわば「接種源」になって実生の感染を促進し、その結果、間接的に実生の成長や定着を促進していることを意味している。既に土壤中に豊富な EM ネットワークが発達している環境では、成木の傍らでなくても実生への外生菌根菌の感染は容易に起ると考えられるので、このような機能は特段意味をなさない。しかし、一次遷移地のような元々 EM ネットワークが存在しない厳しい環境では、このような EM ネットワークの機能が重要な役割を果たしているだろう。

3) 樹木間での外生菌根菌ネットワーク経由の光合成産物転流機能

EM ネットワークの機能については、別の魅力的な仮説が知られている。Björkman (1960) は、光合成が出来ないシャクジョウソウと針葉樹が EM ネットワークで繋がっており、それを通して有機物が針葉樹からシャクジョウソウへ供給されていることを、 ^{14}C のトレーサー実験で推定している。その後、この現象を光合成植物間に拡張したアイデアが主張されるようになった。Simard *et al.* (1997) は、ダグラスファー (*Pseudotsuga menziesii*) の苗とカバノキ属樹木 (*Betula papyrifera*) の苗を隣接して植えて一年間栽培後、一部のダグラスファー苗を程度を変えて6週間被陰した。次いで光の下でカンバに $^{14}\text{CO}_2$ を、ダグラスファーに $^{13}\text{CO}_2$ を光合成で固定させ、それぞれの同位体が他方の樹木にどのくらい移動したかを、9日後に調べた。その結果、双方の苗間で一定量の炭素が双方向的に移動していること、またダグラスファーを同位体標識前に強く被陰するとカンバからダグラスファーに移動する炭素の量が増えることを報告している。実際の林ではしばしばダグラスファーがカンバに被圧されているため、彼女らは、カンバに被圧されて光合成が低下したダグラスファーが、不足する有機物をカンバから得ている可能性を指摘している。

しかし、この Simard らの「樹木苗間での EM ネットワーク経由の炭素移動」に関する実験に対しては、「対照の取り方が不適切」、「移動した炭素が EM ネットワークを経由している根拠がない」、「生態的意味が有るほどの量が移動しているのか」などの批判がなされ、論争が続いている (Robinson and Fitter, 1999; Whitfield, 2007)。またその後、Simard らの主張に反する実験結果も報告されている。Wu *et al.* (2001) は、根箱にアカマツの菌根菌感染苗と未感染苗を並べ、感染苗の根外菌糸体が未感染苗に感染するまで栽培した。次いで、一方の苗にのみ $^{14}\text{CO}_2$ を光合成で固定させて標識し、イメージングプレートを用いた経時的オートラジオグラフィ法で、根外菌糸体 (EM ネットワーク) を介して繋がっている隣の

苗への ^{14}C の移動を調べた。その結果、 ^{14}C は、標識した苗の葉から根、菌根、根外菌糸体、さらには隣の苗の菌根までは転流するが、隣の苗の根や地上部へは移動しないことを観察している。いずれにしても、「樹木苗間での EM ネットワーク経由の炭素移動」の有無や重要性については、もう少し詳しく詳細な検討と議論が必要であろう。

4. 外生菌根菌ネットワーク間の相互作用

1) 外生菌根菌ネットワーク間の相互作用

一つの菌根から発した根外菌糸体が同一樹木の細根や隣接する樹木の細根に感染して新たな菌根を作り、さらにその菌根から根外菌糸体が発達して別の細根に新たに菌根を作るといふ、言わばドミノ倒しのようなプロセスを経て、EM ネットワークが発達する。上述のように、一般に地下部の外生菌根は多様な菌種から出来ているが、そのことは多菌種の EM ネットワークが比較的狭い土壌領域内で混在あるいは隣接していることを意味している。では、近傍にいる異なる EM ネットワークは、相互に何もしないのだろうか? Wu *et al.* (1999) は、それぞれ異なる外生菌根菌種に感染したアカマツ苗2本を、未感染のアカマツ苗を間に挟んで根箱に並置して栽培し、両者の EM ネットワークの発達とそれらの相互作用を観察している。その結果、両者の EM ネットワークが接するようになると、一方の EM ネットワークの発達が抑制されることを報告している。実際の林床では多くの菌種の EM ネットワークがパッチ状に共存しているが、このような他の EM ネットワークの拡大を阻止する競争的相互作用が、EM ネットワークのパッチ状分布の一因になっているのかも知れない。

実際の EM ネットワーク間では、その他にも様々なタイプの相互作用が起こっている可能性があるが、ほとんど研究されていない。最近私たちは、別のタイプのいわば協調的相互作用と言って良い例を見いだしたので、以下その最新データを紹介したい。

2) 外生菌根菌ネットワーク間の菌糸融合と物質移動

一般に同一菌株あるいは異なる菌株であっても「相性」(和合性) が良ければ、互いの菌糸はある頻度で融合する。また逆に、「相性」が悪い菌株は、互いに排斥し合ったり、融合しても融合細胞がその後死滅したりして、融合した菌糸が発達することはない。菌糸融合したりしなかったりする現象は、樹木と共生している EM ネットワーク間でも普通に起こることなのだろうか? また菌糸融合によって、EM ネットワークは互いに連結して拡大したことになるが、その時、機能も拡大するのだろうか? こうした疑問に答えるべく、まず、根外菌糸体間の相互作用を顕微鏡観察した。

Wu ら (投稿準備中) は、コツブタケ属菌の同一あるいは異なる菌株に感染したアカマツ苗2本を、それぞれの根外菌糸体が接するように根箱内に並置して栽培し、その後両菌糸体の接触部での菌糸融合を観察した。その結果、同一の菌株同士では接触後2週間以内に菌糸束が互いの菌糸体領域に伸長して融合したが、異なる菌株間では接触後2週間経っても全く融合しなかった。このことは、樹木と共生している菌の EM ネットワーク間でも、組合せによって菌糸融合が起こっ

たり起こらなかつたりしている可能性を示している。

二つのEMネットワーク間でおこる菌糸融合によって、構造的に拡大した大きなEMネットワークができることになる。外生菌根共生の様々な機能を支えているものは物質の移動と交換であるが、それでは、この構造的拡大に伴って、共生機能を支える光合成産物やリン酸等の栄養移動の移動範囲も広がるのだろうか？ Wuらは次いで、菌糸融合によって光合成産物やリン酸の移動がどのように変わるかを、上記の根箱実験系を用いた ^{14}C および ^{33}P のトレーサー実験によって調べた。まず両者の根外菌糸体を隣接させて2週間栽培後、一方の苗に $^{14}\text{CO}_2$ を光合成によって取り込ませ、経時的オートラジオグラフィを用いて光合成産物の行方を追った。その結果、菌糸融合が起こらない異なる菌株の根外菌糸体間では光合成産物の移動が全く起こらないが、菌糸が融合した菌株間では、あたかも一つの根外菌糸体であるかのように光合成産物の移動が自由に起こることが分かった。同様に、一方の苗の根外菌糸体の一部から ^{33}P -リン酸を吸収させ、経時的オートラジオグラフィを用いてリン酸の行方を追った。その結果、菌糸融合が起こらない組合せでは、一方の苗の根外菌糸体に吸収されたリン酸はその苗の菌根さらには根、茎、葉へと広がったが、 ^{14}C の場合と同じように、隣の苗の根外菌糸体にも苗そのものにも全く移動しなかった。しかし、菌糸融合が起こる組合せでは、一方の苗の根外菌糸体に吸収されたリン酸は、その苗はもちろんのこと、隣の苗の根外菌糸体やさらにはその苗の葉にまで広がっていた。以上の実験結果は、二つの根外菌糸体の菌糸が融合することによって、菌糸内を経由する光合成産物とリン酸の転流が可能になったことを示している。言い換えると、EMネットワーク間の和合性が、EMネットワークの物理的結合とともに機能的結合をももたらすことを示唆している。

今回の実験では融合したのは同一の菌株であったが、私たちは、実際の林床下に発達する同一菌種の遺伝的に異なるEMネットワーク間でも、組合せによっては同様のことが起こっていて、言わば「和合性ギルド」を形成していると予想している。一般に和合性のEMネットワーク同士は、その菌クローンの組合せに固有の融合のし易さや隣接部での菌糸密度に応じて、異なる頻度で融合すると考えられる。従って、実際の林床で「和合性ギルド」がどの程度形成されているかは、そこで隣接するEMネットワークが遺伝的にどの程度融合しやすい菌クローンの組合せか、どの程度根外菌糸体を発達させる菌クローンか、によって左右される。今後、様々な菌クローンの組合せで「和合性ギルド」の形成を実験的に検証するとともに、実際に「和合性ギルド」が林床に発達しているかどうかを検証することによって、これまで私たちが知らなかったEMネットワーク像が見えてくるかも知れない。

5. おわりに

以上概観したように、林床下では、多様な菌種のEMネットワークが互いに隣接あるいはオーバーラップしながら、ある程度棲み分けつつ割拠しているのであろう。またそれらのEMネットワークは、様々な環境条件やEMネットワーク

間の相互作用などによってダイナミックに消長していると予想される。EMネットワークは、基本的に菌糸繁殖して拡大するものと考えられるが、同時に散布された胞子に由来するクローンが参入し、細根への菌根形成を出発点にして新たにEMネットワークを拡大する。さらに、EMネットワーク同士が、ある場合には相手のEMネットワークの発達を阻害したり衰弱させたりし、またある場合には互いに融合して、構造的にも機能的にも拡大したりしているとも想像される。

しかし、これらのネットワークの動態は、必ずしも十分な証拠で裏付けられているわけではない。現時点では、一つ一つ新たなケーススタディを掘り起こして蓄積することが必要である。とりわけ、ネットワークの菌種多様性の変動要因、マイクロサテライトマーカーを用いたジェネット解析による個々の外生菌根菌種の繁殖機構、EMネットワークを通じた養分転流機構、EMネットワーク間の相互作用の更なる解明が重要であろう。とりわけこれらに焦点を当てた森林での実地研究は、EMネットワークの新たな姿を見せてくれるはずである。

要 旨

森林では多くの樹木に外生菌根菌が共生しており、宿主樹木の養分吸収能力を高め成長を促進している。樹木によっては、外生菌根菌との共生は生存や成長に不可欠なものと言ってよい。しかし、樹木と外生菌根菌の共生は地下で起こっていることもあり、それが実際の森林でどのように構築・維持されているのか、またその機能がどう発揮されているのか、詳細はよく分かっていなかった。しかし、近年分子生物学やその他の分野の研究技術が飛躍的に進歩するのに歩調を合わせ、外生菌根共生が実際の森林の地下部でどのように始まり拡大し機能しているのかが、少しずつ明らかになってきた。森林林床下では、複数の菌根を繋ぐ外生菌根菌ネットワーク(EMネットワーク)が形成されている。様々な菌種のEMネットワークがパッチ状に割拠しており、しかもそれらは比較的不安定でダイナミックに変動することが、DNA解析を用いた研究によって明らかにされている。これらのEMネットワークは、宿主樹木の養分吸収を助けその成長を促進することを通して、様々な生態機能を発揮している。これまでに、EMネットワークの生態機能に関する仮説がいくつか提案されており、「EMネットワークは、その上に芽生えた実生の菌根共生を促進することにより、実生の定着や成長を助ける」という仮説、「異なる樹木が、両者を繋ぐEMネットワークを通じて光合成産物を受け渡し、互いに助け合っている」という仮説が、現在注目を集めている。残されたEMネットワークに関する研究課題の一つは、EMネットワーク間の相互作用である。最後に、EMネットワーク間での菌糸融合により、物質移動の機能単位が拡大することを示す最新の実験結果を紹介する。

謝 辞

本稿で例示した研究は、共著論文に名前がある方々をはじめ、多くの共同研究者の多大な貢献の上に達成された。その

方々に敬意と感謝を表したい。また、これらの研究は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (S) (No. 16101008) および基盤研究 (A) (No. 21248018) を始め多数の科学研究費補助金によって支えられた。記して感謝する。

引用文献

- 1) Björkman E (1960) *Monotropa hypopitys* L. – an epiparasite on tree roots. *Physiol. Plant.*, **13**, 308-327
- 2) Björkman E (1970) Forest tree mycorrhiza – the conditions for its formation and the significance for tree growth and afforestation. *Plant Soil*, **32**, 589-610
- 3) Dickie IA (2007) Host preference, niches and fungal diversity. *New Phytol.*, **174**, 230-233
- 4) Guidot A, Debaud JC and Marmeisse R (2001) Correspondence between genet diversity and spatial distribution of above- and below-ground populations of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum*. *Mol. Ecol.*, **10**, 1121-1131
- 5) Horton TR and Bruns TD (2001) The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Mol. Ecol.*, **10**, 1855-1871
- 6) Horton TR, Bruns TD and Parker VT (1999) Ectomycorrhizal fungi associated with *Arctostaphylos* contribute to *Pseudotsuga menziesii* establishment. *Can. J. Bot.*, **77**, 93-102
- 7) Ishida TA, Nara K and Hogetsu T (2007) Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forests. *New Phytol.*, **174**, 430-440
- 8) Ishida TA, Nara K, Tanaka M, Kinoshita A and Hogetsu T (2008) Germination and infectivity of ectomycorrhizal fungal spores in relation to their ecological traits during primary succession. *New Phytol.*, **180**, 491-500
- 9) Kessell SL (1927) Soil organisms. The dependence of certain pine species on a biological soil factor. *Emp. For. Rev.*, **6**, 70-74
- 10) Lian C, Narimatsu M, Nara K and 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 Phytol.*, **171**, 825-836
- 11) Marx DH (1980) Ectomycorrhizal fungus inoculations: a tool for improving forestation practices. In *Tropical Mycorrhiza Research*, Ed. P Mikola, p. 13-71, Clarendon Press, Oxford
- 12) Nara K (2006) Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytol.*, **169**, 169-176
- 13) Nara K and Hogetsu T (2004) Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species. *Ecology*, **85**, 1700-1707
- 14) Nara K, Nakaya H and Hogetsu T (2003a) Ectomycorrhizal sporocarp succession and production during early primary succession on Mount Fuji. *New Phytol.*, **158**, 193-206
- 15) Nara K, Nakaya H, Wu B, Zhou Z and Hogetsu T (2003b) Underground primary succession of ectomycorrhizal fungi in a volcanic desert on Mount Fuji. *New Phytol.*, **159**, 743-756
- 16) Peay KG, Kennedy PG, Davies SJ, Tan S and Bruns TD (2010) Potential link between plant and fungal distributions in a dipterocarp rainforest: community and phylogenetic structure of tropical ectomycorrhizal fungi across a plant and soil ecotone. *New Phytol.*, **185**, 529-542
- 17) Peter M (2006) Ectomycorrhizal fungi – fairy rings and the wood-wide web. *New Phytol.*, **171**, 685-687
- 18) Robinson D and Fitter A (1999) The magnitude and control of carbon transfer between plants linked by a common mycorrhizal network. *J. Exp. Bot.*, **50**, 9-13
- 19) Simard SW, Perry DA, Jones MD, Myrold DD, Durall DM and Molina R (1997) Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature*, **388**, 579-582
- 20) Smith ME, Douhan GW, Fremier AK and Rizzo DM (2009) Are true multihost fungi the exception or the rule? Dominant ectomycorrhizal fungi on *Pinus sabiniana* differ from those on cooccurring *Quercus* species. *New Phytol.*, **182**, 295-299
- 21) Whitfield J (2007) Underground networking. *Nature*, **449**, 136-138
- 22) Wu B, Nara K and Hogetsu T (1999) Competition between ectomycorrhizal fungi colonizing *Pinus densiflora*. *Mycorrhiza*, **9**, 151-159
- 23) Wu B, Nara K and Hogetsu T (2001) Can ¹⁴C-labeled photosynthetic products move between *Pinus densiflora* seedlings linked by ectomycorrhizal mycelia? *New Phytol.*, **149**, 137-146
- 24) Zhou Z and Hogetsu T (2002) Subterranean community structure of ectomycorrhizal fungi under *Suillus grevillei* sporocarps in a *Larix kaempferi* forest. *New Phytol.*, **154**, 529-539
- 25) Zhou Z, Miwa M, Matsuda Y and Hogetsu T (2001) Spatial distribution of the subterranean mycelia and ectomycorrhizae of *Suillus grevillei* genets. *J. Plant Res.*, **114**, 179-185