

学 位 論 文 題 名

Community structures of arbuscular mycorrhizal fungi
in symbiosis with pioneer grass species
Miscanthus sinensis in acid sulfate soils

(酸性硫酸塩土壌におけるパイオニア植物ススキに共生する
アーバスキュラー菌根菌の群集構造)

学位論文内容の要旨

火山噴出物由来の岩石やマングローブ林に由来する河口付近の底質などに多く含まれるパイライト (FeS_2) が、大規模な土砂の切り出しや干拓などの開発により地表面に露出すると、化学的および微生物的に酸化されて硫酸が生じ、酸性硫酸塩土壌が生成される。このような土壌では、酸性化によるアルミニウムやマンガなど有害元素の可溶化、リン酸可給度の低下や塩基の溶脱により、植生の定着が著しく阻害される。また、裸地のまま放置すると、水域の酸性化や金属元素の沈着による汚染を引き起こし、沿岸生態系を脅かすことも報告されていることから、その緑化修復技術の確立は急務である。一方、劣悪な環境に最初に侵入・定着するパイオニア植物は、高いストレス耐性を持つと共に、菌根菌や窒素固定菌などの共生微生物を利用して、貧栄養環境に適応している。アーバスキュラー菌根菌は、およそ 80% の陸上植物と共生して、宿主にリン酸を供給する能力を持っていることから、リン酸が不足しやすい酸性土壌においては、植生の定着に重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、本菌は培養できない絶対生体栄養菌であるため、その生理・生態には不明な点が多く、特に荒廃地の初期遷移過程における役割や群集構造に関する情報は乏しい。本研究では、この菌を利用した緑化修復技術を確立するための基礎的知見を得ることを目的に、東アジア地域の酸性硫酸塩土壌において重要なパイオニア植物であるススキ (*Miscanthus sinensis*) に共生するアーバスキュラー菌根菌の群集構成について調査した。

酸性硫酸塩土壌が分布する北海道蘭越町 (亜寒帯)、愛知県幡豆町 (温帯) および沖縄県名護市 (亜熱帯) に加え、北海道厚真町の河岸段丘 (砂質土壌) に形成されたススキ群落を調査対象地とした。酸性硫酸塩土壌が分布する各調査地で

は無作為に選んだ 12 個体のススキ根圏から土壌を採取した。厚真町のススキ群落からは 30×50 m のプロット内に設定した 12 か所の格子交点から根圏土壌を採取した。温室においてこれらの土壌でススキ実生を 2 か月間栽培した後、地下部を液体窒素による急速凍結後に凍結乾燥し、それぞれの根サンプルより DNA を抽出した。これを鋳型として糸状菌特異的プライマーによりアーバスキュラー菌根菌のリボソーム RNA 遺伝子の一部を増幅し、各個体のクローンライブラリーを作成した。個々のライブラリーからランダムに選んだ 16~32 クローンの塩基配列を決定し、BLAST 検索により近縁な種を特定すると共に、系統解析により塩基配列に基づいた分類群を決めた。また、採取した根圏土壌の化学分析を行った。

根圏土壌サンプルの pH は、蘭越町で最も低く (3.0-5.0)、次いで幡豆町 (3.5-4.5) および名護市 (3.0-5.5) の順であり、厚真町の砂質土壌では最も高かった (5.0-6.0)。全炭素および全窒素含量は土壌 pH と高い相関が認められ、pH が高い調査地の土壌ほど、全炭素および窒素含量が高かった。全リン含量は厚真町の土壌で最も低く、次いで蘭越町および名護市の順であり、幡豆町の土壌で最も高かった。各調査地のサンプルからそれぞれ 100 クローン以上の塩基配列を決定し、合計で 20 種類のアーバスキュラー菌根菌の分類群を同定した。各調査地間の菌根菌群衆構造の類似性と地理的距離 (気候帯) との間には、有意な相関は認められなかった。さらに、調査地間の群集構造の相違を主成分分析により比較したところ、第一主成分は土壌 pH の相違を反映していることが推定された。そこで、各分類群の第一主成分スコアとそれぞれの分類群が検出された土壌 pH との回帰分析を行ったところ、これらの間に有意な相関が認められた。また、それぞれの分類群が検出される土壌 pH の範囲は、分類群の間で有意に異なっており、酸性から中性の広い範囲の pH に適応している *generalists* と主に中性土壌に分布する *neutral specialists* にグループ分けされた。

本研究では、強酸性土壌の初期遷移で重要な役割を果たすパイオニア種のアーバスキュラー菌根菌の群衆構造が初めて明らかにされた。また、菌根菌群集の主要な決定要因が土壌 pH であること、強酸性土壌に棲息しているアーバスキュラー菌根菌には、広い範囲の pH に適応できる *generalist* が多いこと、地理的隔離や気候帯は菌根菌の群衆構造にはほとんど影響しないことなども同時に明らかにされた。これらの知見は、極限環境におけるアーバスキュラー菌根菌の生態を知る上で重要なものであるだけでなく、荒廃地の緑化修復技術を確立するための重要な示唆を与えている。

学位論文審査の要旨

主 査 准教授 江 澤 辰 広

副 査 教 授 大 崎 満

副 査 教 授 山 田 敏 彦

学 位 論 文 題 名

Community structures of arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with pioneer grass species *Miscanthus sinensis* in acid sulfate soils

(酸性硫酸塩土壌におけるパイオニア植物ススキに共生する
アーバスキュラー菌根菌の群集構造)

本論文は英文 67 頁、図 19、表 2、引用文献 52、緒言、2 章、英文総括からなり、ほかに参考論文 1 編が付されている。

火山噴出物由来の岩石やマングローブ林に由来する河口付近の底質などに多く含まれるパイライト (FeS_2) が、大規模な土砂の切り出しや干拓などの開発により地表面に露出すると、化学的および微生物的に酸化されて硫酸が生じ、酸性硫酸塩土壌が生成される。このような土壌では、酸性化によるアルミニウムやマンガンなど有害元素の可溶化、リン酸可給度の低下や塩基の溶脱により、植生の定着が著しく阻害される。また、裸地のまま放置すると、水域の酸性化や金属元素の沈着による汚染を引き起こし、沿岸生態系を脅かすことも報告されていることから、その緑化修復技術の確立は急務である。一方、劣悪な環境に最初に侵入・定着するパイオニア植物は、高いストレス耐性を持つと共に、菌根菌や窒素固定菌などの共生微生物を利用して、貧栄養環境に適応している。アーバスキュラー菌根菌は、およそ 80% の陸上植物と共生して、宿主にリン酸を供給する能力を持っていることから、リン酸が不足しやすい酸性土壌においては、植生の定着に重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、本菌は培養できない絶対生体栄養菌であるため、その生理・生態には不明な点が多く、特に荒廃地の初期遷移過程における役割や群衆構造に関する情報は乏しい。本研究では、この菌を利用した緑化修復技術を確立するための基礎的知見を得ることを目的に、東アジア地域の酸性硫酸塩土壌において重要なパイオニア植物である

ススキ (*Miscanthus sinensis*) に共生するアーバスキュラー菌根菌の群集構成について調査した。

酸性硫酸塩土壌が分布する北海道蘭越町（亜寒帯）、愛知県幡豆町（温帯）および沖縄県名護市（亜熱帯）に加え、北海道厚真町の河岸段丘（砂質土壌）に形成されたススキ群落を調査対象地とした。酸性硫酸塩土壌が分布する各調査地では無作為に選んだ 12 個体のススキ根圏から土壌を採取した。厚真町のススキ群落からは 30×50 m のプロット内に設定した 12 か所の格子交点から根圏土壌を採取した。温室においてこれらの土壌でススキ実生を 2 か月間栽培した後、地下部を液体窒素による急速凍結後に凍結乾燥し、それぞれの根サンプルより DNA を抽出した。これを鋳型として糸状菌特異的プライマーによりアーバスキュラー菌根菌のリボソーム RNA 遺伝子の一部を増幅し、各個体のクローンライブラリーを作成した。個々のライブラリーからランダムに選んだ 16~32 クローンの塩基配列を決定し、BLAST 検索により近縁な種を特定すると共に、系統解析により塩基配列に基づいた分類群を決めた。また、採取した根圏土壌の化学分析を行った。

根圏土壌サンプルの pH は、蘭越町で最も低く（3.0-5.0）、次いで幡豆町（3.5-4.5）および名護市（3.0-5.5）の順であり、厚真町の砂質土壌では最も高かった（5.0-6.0）。全炭素および全窒素含量は土壌 pH と高い相関が認められ、pH が高い調査地の土壌ほど、全炭素および窒素含量が高かった。全リン含量は厚真町の土壌で最も低く、次いで蘭越町および名護市の順であり、幡豆町の土壌で最も高かった。各調査地のサンプルからそれぞれ 100 クローン以上の塩基配列を決定し、合計で 20 種類のアーバスキュラー菌根菌の分類群を同定した。各調査地間の菌根菌群集構造の類似性と地理的距離（気候帯）との間には、有意な相関は認められなかった。さらに、調査地間の群集構造の相違を主成分分析により比較したところ、第一主成分は土壌 pH の相違を反映していることが推定された。そこで、各分類群の第一主成分スコアとそれぞれの分類群が検出された土壌 pH との回帰分析を行ったところ、これらの間に有意な相関が認められた。また、それぞれの分類群が検出される土壌 pH の範囲は、分類群の間で有意に異なっており、酸性から中性の広い範囲の pH に適応している *generalist* と狭い pH 範囲の中性土壌に分布するグループ分けられた。

本研究では、強酸性土壌の初期遷移で重要な役割を果たすパイオニア種のアーバスキュラー菌根菌の群集構造が初めて明らかにされた。また、菌根菌群集の主要な決定要因が土壌 pH であること、強酸性土壌に棲息しているアーバスキュラー菌根菌には、広い範囲の pH に適応できる *generalist* が多いこと、地理的隔離や気候帯は菌根菌の群集構造にはほとんど影響しないことなども同時に明らかにされた。これらの知見は、極限環境における

アーバスキュラー菌根菌の生態を知る上で重要なものであるだけでなく、荒廃地の緑化修復技術を確立する上で重要な基礎的知見であると言える。

よって、審査員一同は、An Gi-Hong が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。