

## 論文の内容の要旨

論文題目 都市化による森林の孤立が温帯林の樹木葉内生  
菌群集に与える影響

(Effect of forest isolation with urbanization on endophytic  
fungal community in tree foliage of temperate forests)

氏 名 松村 愛美

人間活動が活発な都市では、自然環境に多くの負荷がかかっており、特に都市林では複数の問題が同時に起こっている。森林の小面積化・孤立は野生生物の生育生息地の分断・孤立を引き起し、生物個体の分散が制限されることで、個体数や種多様性が低下すると考えられている。しかし、肉眼で観察できない微小菌類、例えば樹木の葉内生菌への影響についての情報は皆無である。

植物内生菌 (endophytic fungi) は、生活環のある時期において、病徴を現すことなく、生きた宿主植物の組織内に生息する生物の真菌類を指す。広義の共生者である内生菌はその普遍性や多様な生態 (先駆的分解者、潜伏性病原菌、相利共生者) が観察されている。また宿主特異的な菌と宿主範囲の広い菌がいることや胞子により水平伝播することが分かっている。内生菌群集の種組成や多様性を決める主要な要因として、宿主系統と環境が挙げられている。マツ科やブナ科樹木では 1~数種の宿主特異的菌が優占するため、樹木の葉内生菌群集は宿主樹種の系統によって規定されていると考えられている。しかし、同樹種でも菌群集に地域間差異があることや、多樹種が混交する熱帯林では、同所に生育する樹木個体同士の菌群集が樹種を超えて類似するとの報告もある。また、内生菌の感染率は、一般に気候 (降水量・湿度など)、周辺植生 (宿主密度など) などの環境の違いによって変化

することが分かっている。したがって、内生菌群集の成立要因を知るためには、多くの地域で多くの樹種に関する網羅的な情報を集積することが必要である。

都市孤立林では島嶼などと同様に感染源が限られていることから、孢子分散の制限により、分散制限のない山地林と比べて、菌群集の多様性の低下が起きている可能性も考えられる。そこで博士論文の目的を都市化による森林の孤立が温帯林の樹木葉内生菌群集に与える影響を明らかにすることとした。山地林と都市近郊林の菌群集の違いを、異なる系統を含む複数種の樹木を対象として明らかにし(2・3章)、菌群集が異なる原因を、都市孤立林における宿主の存在量との関係から解析した(3章)さらに、宿主特異的な菌の生態的特徴を明らかにするため葉内分布と季節・葉齢による変化を明らかにした(4・5章)。

調査地は、山地林として東京都八王子市高尾山と茨城県笠間市吾国山、都市近郊林として千葉県柏市こんぶくろ池公園(以下こんぶくろ)、同市東大柏キャンパス内林分(東大柏)、流山市市野谷の森(市野谷)、栃木県宇都宮市雑木林(宇都宮)、都市林として千葉県千葉市県立中央博物館内生態園(中央博)、東京都文京区小石川植物園(小石川)、同区東京大学本郷キャンパス懐徳館(本郷)を選定した。

内生菌の分離は、外見上健全なシュートを採集し、採集後48時間以内にサンプル処理を終えた。採集サンプルを流水洗浄した後、エタノール・アンチホルミン系の表面殺菌後、切片を作成した。切片を1/2 PDA 平板培地に静置し20°C暗黒条件下で培養した。分離菌株の同定作業は、主に孢子や菌叢による形態分類で行い主要な菌群についてはDNA解析を行った。同定に至らなかった菌群は任意に命名した。分離頻度(Isolation frequency 以下IF;%) = 菌が出現した供試片数/供試片数×100。

2章では、宿主の系統が大きく異なる計7科9樹種(全調査地で5樹種、常緑針葉樹2種、常緑広葉樹2種、落葉広葉樹2種を含む)で宿主特異的指標(Si)により内生菌の宿主特異性を評価し、山地林(高尾山、吾国山)と都市近郊林(東大柏)の内生菌群集の差異を明らかにすることを目的とした。2006、2007年の夏季にサンプル採集した。その結果、全ての樹種から1菌群以上の宿主特異的菌が見いだされた。さらに宿主特異的菌は山地林で優占する傾向が強く、既往の内生菌種と宿主系統の対応関係と本研究の結果があてはまり、温帯林の典型的な内生菌群種であることが示された。しかしながら、IFの合計値は、東大柏で低く、さらに宿主特異的菌のIFは、東大柏で山地より低かった。同じ調査地内の異樹種間の類似性は、NMSの布置とMorisita-Hornの類似度指数より、東大柏で最も高いことが示された。都市化により森林が孤立した東大柏の内生菌群集は、山地林のものとは異なり、樹種を超えて内生菌群集が均一化していた。すなわち他の生物相と同様に内生菌の多様性が低下していると考えられた。

3-1 章では、都市近郊林 3 地点を対象とし、都市の温湿度環境や林縁効果の内生菌群集への影響を明らかにすることを目的とした。こんぶくろ、市野谷では、広宿主範囲菌 *Phomopsis* sp.1 の感染密度が林内樹冠下部で樹冠上部より、また林内のは林縁のものより有意に高かった。一方で宿主特異的菌である *Discula* sp.1 では、そのような IF の有意な差はみられなかった。宿主特異的菌の IF は宿主密度等の生物的要因により規定されていることが示唆された。3-2 章では、都市近郊林の内生菌群集を多地点で把握すること、内生菌群集の決定要因を評価すること、都市近郊林で宿主特異菌が低下した原因を明らかにすることを目的とした。計 7 目 9 科 17 種の樹木より内生菌分離、植生調査、環境調査を 4 都市近郊林と 1 山地林で 2009 年 8 月~10 月に行った。その結果、都市近郊林では、宿主密度が高いほど宿主特異的菌の IF が高かった。またコナラ属、クマシデ属、サクラ類、ヒノキ科は宿主系統が近いほど種組成が類似した。内生菌群集の類似度が宿主系統距離、樹木間距離、光環境と関連するかを偏マンテル検定により解析した。ほとんどのプロット・調査地で菌群集の類似度指数と宿主の系統距離に有意な負の相関がみられ、これは宿主の系統が近いほど菌群集が類似することを示した。一方、都市近郊林のみで菌群集の類似度指数と樹木間距離に有意な負の相関がみられた。すなわち、東大柏や市野谷の都市林では、樹木間の距離が近いほど菌群集が類似すること、宿主系統より樹木間距離の影響がより強いことが示唆された。3-3 章の結果より、都市林の内生菌群集では都市近郊林と同様に宿主特異的菌が少なく、宿主密度の低下に加えて、造成や植栽などの森林履歴の影響も大きいと考えられた。よって 3 章の結果より、都市近郊林では低い宿主密度および／または森林の造成による感染源の制限が宿主特異的菌の分離頻度に負の影響を与える結果、内生菌群集が均一化するとともに、個々の樹木個体の内生菌群集は近傍の樹木個体と類似する傾向を示すようになると考えられた。

4 章では、内生菌群集の葉内分布により菌種間の拮抗関係を示した。また宿主特異的菌 *Tubakia* sp.1 は一般的に菌が感染しにくい部位に偏在していた。5 章では、宿主特異的菌の IF は、夏にもっとも高くなるという独特の傾向を示し、ほとんどの広宿主範囲菌が示した冬から早春に最も感染が高まるという傾向とは異なることが明らかにされた。よって、これらの章は、宿主特異的菌が空間的・時間的に内生菌群集の多様性に寄与することを示唆した。

以上より、都市の孤立林は本来の温帯林内生菌の特徴を損ない菌組成が均一化しており、都市化による森林の孤立は、内生菌群集に大きな影響を及ぼしていることが示された。