

機関番号：12102

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20710056

研究課題名（和文）環境変動下における、小笠原外来種アカギの病原菌に対する抵抗性-固有種との比較

研究課題名（英文）Pathogen tolerance of invasive *Bischofia javanica* in Bonin islands under environmental variation -comparison with endemic species

研究代表者

山路 恵子 (YAMAJI KEIKO)

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：00420076

研究成果の概要（和文）：小笠原では、外来種アカギの繁茂により固有種が駆逐される現象が生じ、問題となっている。小笠原外来種アカギが侵入を成功させた要因には、林内ギャップ内での、1）高い生残率、2）無機栄養成分の吸収量の増加に伴う成長量の増加、3）病原菌に対する化学的抵抗性の増加が寄与していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：In Bonin islands, it has been important problem that invasive *Bischofia javanica* has inhibited endemic species-growth. In the forest gap, *B. javanica* showed high survival from pathogenic attack, high growth through highly nutrient-uptake, and chemical tolerance against pathogens. These characteristics of *B. javanica* seem to be effective on invasion in Bonin islands.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：環境学

科研費の分科・細目：環境学・環境技術

キーワード：アカギ、病原菌、抗菌物質

1. 研究開始当初の背景

外来種の分布拡大メカニズムを探り、その制御法を確立することは、海外でも重量な研究分野の一つになっている。国内でも近年「特定外来生物被害防止法」が制定され、外来植物の生態系や環境に及ぼす影響の評価や解明・対策が社会的に強く求められている。

小笠原は大陸と一度もつながったことのない海洋島で、樹木の75%が固有種という貴重な森林生態系を有しているが、人間が

導入した外来種の旺盛な繁殖のため、固有種が駆逐される現象が生じている。そして外来種の駆除や侵入防止対策が、小笠原の自然遺産登録への必須条件になっている。その小笠原で大きな被害をもたらしている外来種の一つに、用材や薪炭材用に持ち込まれた、南-東南アジアを原産とするアカギ (*Bischofia javanica*) がある。現在、用材や薪炭材としての利用がないアカギはギャップ（倒木などの要因によって林内に生じた空間）や土壌が攪乱された場所を中心

に純林を形成しつつある。

外来種アカギが旺盛な繁殖力を持ち、侵入を成功させた要因の一つに、実生の高い生存率が上げられる。暗い林床において、アカギと競合関係にある固有種シマホルトノキでは、発芽後 200 日経過してわずか 5.2%の生存率であったのにも関わらず、アカギでは 96%と高い生存率を示したとの報告がある。両樹種とも実生枯死の主要因は菌害によるものであった。一般に植物は細胞壁を物理的に厚くし、抗菌物質をつくることで病原菌の感染から身を守っている。シマホルトノキ実生と比べてアカギ実生は、台風や攪乱後の光環境の変化に素早く順応し光合成を行う能力が高いため、移入成功が可能であった、と考えられている。アカギ実生の林床での高い生存率は移入成功の重要な Key になっているはずだが、抗菌性に関する研究は全くないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では、固有種と比べて外来種のアカギの高い実生生存率に影響を及ぼしているであろう、「病原菌に対する抵抗性の差の原因」を探る。光合成で得られた炭素や土壌から得られた栄養塩は、成長や生命活動の維持に必要なタンパク質・核酸などを産生する一次代謝経路と、抗菌物質などのストレス防御物質を産生する二次代謝経路とに二分されて利用される。植物が生育する光や栄養条件といった資源環境、およびストレスに応答した代謝経路の切り替えが、実生の生存に影響を与えている可能性がある。本研究では、1) 小笠原アカギ林内におけるアカギ実生の生残調査、2) 枯死実生からの病原菌の分離、3) 生残実生の無機元素吸収量の分析、4) 生残実生の抗菌物質の分析を行う。以上の結果から、アカギの繁殖原因を明らかにすることで、アカギの制御できる環境条件・制御法を検討する。

3. 研究の方法

(1) アカギ実生の現地調査

2008年12月に小笠原父島吹上谷アカギ林内(N27° 04', E142° 12')に照度別に2つの調査区(相対照度:sun区; 2.97%, shade区; 0.79%)を設置し、実生のナンバリングを行った(sun区: 297, shade区: 94)。実生の生残数の調査は2009年2月から7月まで、1ヶ月ごとに行い、生残率を算出した。Sun区は林内ギャップ下、shade区は被圧木が多い閉鎖林内に設置した。

(2) 実生の成長

現地調査時には両調査区において生残実生を採取し、葉部と胚軸部、根部に分け、新

鮮重量を測定した。また、本葉の枚数も測定し、生育段階の指標とした。

(3) 実生枯死要因の特定、病原菌の分離

ナンバリングした実生のうち、枯死実生を採取し、実体顕微鏡観察で観察を行い、枯死要因を特定した。胚軸部に病徴が観察された実生については表面殺菌を行い、糸状菌を分離し、各菌の出現率を算出した。2009年2月から7月にかけて生残数及び枯死・生残実生の採取を行った。

(4) 無機栄養元素含有量の分析

両調査区において、2009年2月、4月、6月に採取した生残実生を葉部、胚軸部、根部に分離した。80℃で2日間乾燥させた後、葉部・根部を粉碎・硝酸分解し、無機栄養元素(P・Mg・Ca・Na・K・Fe)をICP-AESにて分析した。

(5) 抗菌物質含有量の分析

両調査区において、2009年の2月、3月、4月、6月に採取した生残実生の胚軸部を磨砕し、100%メタノールで1日抽出した。抽出液を減圧濃縮し、800 μ lの50%メタノールに再溶解させ、HPLC-DADで分析した。220-400nmのUVスペクトル特性および検出時間によって、フェノール性物質の同定を行った。

4. 研究成果

(1) アカギ実生の生残

光環境の異なる両調査区において、生残率に差が確認された。調査開始直後の2009年2月には、生残率がsun区では66%、shade区で33%であり、shade区での実生数の減少が著しかった。最終調査月の7月には、sun区では生残率が21%、shade区では1%であった。相対照度のより高いsun区ではshade区と比較して生残率が上昇し、枯死の遅延が生じていると考えられた。

(2) 実生の成長

相対照度のより高いsun区では、shade区と比較して、個体当たりの新鮮重量が増加した。生育段階が上昇した(2009年7月の平均値: 160 mg/sun実生、110 mg/shade実生)。特に、地上部の新鮮重量の差が顕著であった。また、2009年7月におけるアカギ実生1個体当たりの本葉数の平均値は、3枚/sun実生、1枚/shade実生であり、明らかな差が観察された。光環境は実生の生育段階や成長量の顕著な影響を与え、sun区では生育状態がより良い実生が生き残ることが示唆された。

(3) 実生枯死要因の特定、病原菌の分離

調査期間中の枯死実生を顕微鏡観察した結果、虫害による枯死や分解による損失もあ

ったが、実生の主要な枯死要因は、胚軸上部が腐敗することによる病気枯死であると考えられた。枯死時期の違いによる枯死要因の変動は確認されなかった。また、全ての病気枯死実生から病原菌の可能性のある糸状菌の分離を試みた結果、4種の糸状菌株が高頻度で分離された。分離菌株の病原性を確認するために、今後はアカギ実生への接種試験を成功させ、病原菌であることを明らかにする必要がある。

(4) 無機栄養元素含有量の分析

葉部・地下部の無機元素濃度は、両区で差がないか、Shade 区の実生で高かった。実生の成長期における希釈効果を予想し、個体当たりの含有無機元素量で評価したところ、Sun 区の実生における葉部の Mg・Ca・Na・K・Fe、地下部の P・Mg・Ca・Na・K・Fe の量が shade 区と比べて顕著に多かった。実生が吸収した無機元素量での評価をすると、光環境の差異が実生の無機栄養成分の吸収量にも顕著な影響を与えたことが明らかとなった。また、sun 区の実生においては、今後生育段階が進み成長速度が緩やかになれば、無機栄養成分濃度にも顕著な差が確認される可能性があると考えられる。

(5) 抗菌物質含有量の分析

病原菌感染部である胚軸部に含まれる主要なフェノール性物質は、クロロゲン酸類縁体であった。クロロゲン酸類縁体は多くの病原菌に対して抗菌性を示す化合物として報告されている (Waterman and Mole, 1994)。Sun 区の実生胚軸部のクロロゲン酸類縁体量は、shade 区に比べ 1.1-2.6 倍多かった。本化合物を同定し抗菌活性について、ペーパーディスク法などを行うことで、明らかにする必要がある。

(6) 結論

林内でも、ギャップのような明るい光条件は、アカギ実生の成長や、無機栄養成分の吸収を促進し、抗菌物質であるクロロゲン酸類縁体量を増加させるような、有利な生育条件であると考えられ、生残にも影響を与えたと考えられた。アカギ実生は、成長・防御の両面から、生存に有利な能力を持ち、ギャップなどでの高い光適応能力が小笠原諸島への移入成功の要因として考えられた。

アカギの駆除法としては、林内での実生の天然更新の際に、ギャップ下での発芽実生の刈り取りが最も効率的だと考えられる。

(7) 得られた結果の国内外における位置づけとインパクト

国内外においても、外来種の移入成功の要因の一つとして、病原菌に対する抵抗性のメ

カニズムを、現地調査を介して、化学的に明らかにした事例はない。基礎的知見ではあるものの、外来種の侵入能力を明らかにした本研究のインパクトは大きい。

(8) 今後の展望

当初の予定では、小笠原固有種であるホルトノキ実生とアカギ実生の比較を行う予定であったが、(1) 森林地でのホルトノキ実生がほとんど確認されなかったこと、(2) 本研究期間においてホルトノキ種子が採取できなかったこと、(3) ホルトノキ実生の主要な病原菌がウイルスであり比較しにくかったことから、断念した。また、2009年に小笠原父島においてアカギが種子を結実しないというまれな事態に直面し、室内での環境変動を設定した実験が、遅延してしまい現在も継続中である。今後は、(1) アカギ実生への分離糸状菌の接種試験、(2) 単離した化学物質の抗菌活性試験、(3) 光環境や栄養環境変動下でのアカギ実生と病原菌との関係性の変動解析を行っていくことで、外来種アカギの生残メカニズムを詳細にしていく必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

(1) Yamaji K. and Ichihara Y. The role of catechin and epicatechin in chemical defense against damping-off fungi of current-year *Fagus crenata* in natural forest. *Forest Pathology*, 査読有, doi:10.1111/j.1439-0329.2010.00709.x.

(2) Ichihara Y. and Yamaji K. Effect of light conditions on the resistance of current-year *Fagus crenata* seedlings against fungal pathogens causing damping-off in a natural beach forest: fungus isolation and historical and chemical resistance. *Journal of Chemical Ecology*, 査読有, 35, 1077-1085. 2009.

(3) 石田厚、中野隆志、原山尚徳、矢崎健一、大曾根陽子、河原崎里子、清水美智留、松木佐和子、山路恵子、山下直子 小笠原乾燥尾根部に生育する植物の葉と茎の生理生態学的特性 小笠原研究、査読有、34、9-31、2009.

[学会発表] (計4件)

(1) 加藤綾奈、三浦千裕、多和田良昭、小

林勝一郎、石田厚、山路恵子、異なる光環境下での小笠原外来種アカギの病原菌に対する抵抗性 第58回日本生態学会、札幌コンベンションセンター、2011. 3. 11.

(2) Miura C, Tawata Y, Ishida A, Kobayashi K and Yamaji K. 5th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology, Hawaii, U. S. A. , 2009. 10. 28.

(3) Matuoka H, Akiyama M, Kobayashi K and Yamaji K. Elucidation of interaction between *Carex kobomugi* Ohwi. and rhizosphere microorganisms in Hasaki coast ,Ibaraki Pref., Japan. 5th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology, Hawaii, U. S. A. , 2009. 10. 28.

(4) Nagata S, Nomura N and Yamaji K. Zn accumulation in *Cicuta virosa* could be influenced by rhizospheric bacteria in Hitachi mine, Ibaraki prefecture, Japan. 5th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology, Hawaii, U. S. A. , 2009. 10. 28.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山路 恵子 (YAMAJI KEIKO)

筑波大学大学院・生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：00420076