

その他普及記事 (Other articles)

論文紹介：生息地の分断化は絶滅危惧外生菌根菌集団の遺伝子流動を強く制限する—トガサワラ特異的地下生菌トガサワラショウロの分布域全体での調査から—

Introduction to "Habitat fragmentation strongly restricts gene flow in endangered ectomycorrhizal fungal populations: Evidence from *Rhizopogon togasawarius*, specific to *Pseudotsuga japonica*, across the entire distribution range"

阿部 寛史

Hiroshi Abe

東京大学大学院新領域創成科学研究科, 〒 277-8563 千葉県柏市柏の葉 5-1-5

Evaluation of Natural Environment Laboratory, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa-shi, Chiba 277-8563, Japan

E-mail: h_abe@s.nenv.k.u-tokyo.ac.jp

Article Info: Submitted: 18 November 2024 Published: 31 December 2024

生息地の分断化は遺伝子流動を減少させ、遺伝的浮動や近親交配を通じて遺伝的多様性の喪失を引き起こす (Frankham et al., 2010)。しかし、森林生態系で重要な役割を担う外生菌根菌 (以下、菌根菌) において、生息地の分断化が遺伝的多様性に与える影響は全く研究されていなかった。本研究では、絶滅危惧樹木トガサワラと特異的に共生する地下生菌トガサワラショウロ *Rhizopogon togasawarius* Mujic, K. Hosaka & Spatafora (ショウロ科ショウロ属) の集団遺伝構造とデモグラフィー (集団分化の歴史) を調査した。その結果、分断化によって集団間の遺伝子流動が強く制限され、トガサワラショウロの遺伝的多様性が低下していることが明らかになった (Abe et al., 2024)。本普及記事では、その概略を紹介する。

生息地の分断化は生物多様性への主要な脅威の一つであり、遺伝子流動の制限による遺伝的分化や遺伝的多様性の減少を引き起こす (Fahrig, 2003)。特に近親交配により有害な劣性遺伝子のホモ接合が進むことで引き起こされる近交弱勢は、個体の適応度を低下させ、絶滅リスクを高める (Charlesworth & Willis, 2009)。こうした生息地の分断化の影響は多くの動植物で研究されてきたが、絶滅が危惧される微生物では全く研究がされていなかった。

菌類の保全が遅れている理由の一つに、保全状況評価のための詳細な分布データの不足が挙げられる。実際、IUCN レッ

ドリストの絶滅危惧カテゴリーでは、植物が 24,919 種、動物が 16,900 種リストされているのに対し、菌類はわずか 226 種に過ぎない (IUCN, 2023)。しかし、多くの菌類が陸上生態系で重要な役割を果たしているため、菌類種の保全を軽視することはできない。特に、外生菌根菌は温帯から亜寒帯地域の森林生態系において重要であり、樹木の栄養吸収に不可欠である (Smith & Read, 2008)。通常、1 種類の樹木に多くの菌根菌が共生するが、攪乱後の実生定着では特定の菌根菌に依存することが知られる (Glassman et al., 2016; Peay et al., 2009)。これらの菌の絶滅は、宿主樹木の定着や森林再生に深刻な影響を及ぼす可能性がある。トガサワラショウロ (図 1) は、日本固有の絶滅危惧



図 1. 筆者が採集したトガサワラショウロ *Rhizopogon togasawarius* (三重県大又産)。

針葉樹トガサワラに特異的に共生する菌根菌である (Mujic et al., 2014)。この共生関係は、宿主と菌根菌の祖先が北米から移住して以来、3000 万年以上にわたって続いている (Mujic et al., 2019)。20 世紀半ば以降、日本の自然林は経済成長とともに急増した木材需要を満たすため、広範囲にわたりスギやヒノキの人工林に転換された。その結果、トガサワラの分布は以前の記録から大幅に減少し、残存している木は特定の保護地域に約 2000 本のみとなっている (IUCN, 2023; Tamaki et al., 2018)。トガサワラショウロは自然条件下ではトガサワラとしか共生しないため、その分布域は宿主樹木の分布域に限定される (Okada et al., 2022)。よって、トガサワラショウロの著しく分断化された生息地と明確に定義された分布域を利用すれば、分布域全体にわたる集団の遺伝的構造を調査することが可能である。また、トガサワラでは分断化により残存した林間の遺伝子流動が著しく制限され、潜在的な近交弱勢が原因で発芽率が低下していることが報告されている (Tamaki et al., 2018)。ショウロ属の胞子は菌食性動物によって散布されるが、これらの動物は移動範囲が小さく、地理的障壁の影響を強く受ける (Grubisha et al., 2007)。したがって、トガサワラショウロへの脅威はさらに大きくなると予想される。

そこで、絶滅危惧菌類に対する保全遺伝学研究として、トガサワラショウロ集団を対象に、①トガサワラ林の分断化が遺伝子流動を制限しているか、②トガサワラショウロ集団内で低い遺伝的多様性と高い近親交配が見られるか、③集団の遺伝的分化が宿主集団と一致しているか、の 3 つの仮説を検証した。

紀伊半島の 3 集団 (川又観音: KW、三ノ公: SN、大又: OM) と四国の 2 集団 (安田川: YS、西ノ川: NK) を対象に調査を行った (図 2)。これまで菌根菌の集団遺伝学研究では主に子実体を使用されてきた。しかし、トガサワラショウロの子実体の発見例は 2 例しかないため現実的ではない (Mujic et al., 2014; 折原, 2019)。そこで、トガサワラと同属のダグラスファー実生を現地土壌で育成し、根に菌根を合成させる方法 (Murata et al., 2017) を使用した。5 つの集団からトガサワラショウロが感染した菌根を 391 根端収集し、20 遺伝子座の SSR マーカーで遺伝子型を決定して、固有の遺伝子型を持つ 236 個体で集団遺伝解析を行った。

その結果、集団全体で強い遺伝的分化 ($F_{ST} = 0.255$) が見られ、8 km しか離れていない集団間でも有意な遺伝的分化 ($F_{ST} = 0.075$) が確認された (表 1)。STRUCTURE 解析では、トガサワラショウロ集団が 5 つのクラスターに分かれ、ほとんどの個体が各調査地固有の遺伝的組成を示した (図 2)。以上の結果は、トガサワラショウロ集団間の遺伝子流動が著しく制限されていることを示す。トガサワラショウロの生息地は山岳地帯の急峻な尾根によって分断されているため、胞子分散を担う菌食性動物がこれらの地理的障壁を越えられず、遺伝子流動が制限されたとみられる。北米では、小さな海峡 (約 5 km) や島内の乾燥した

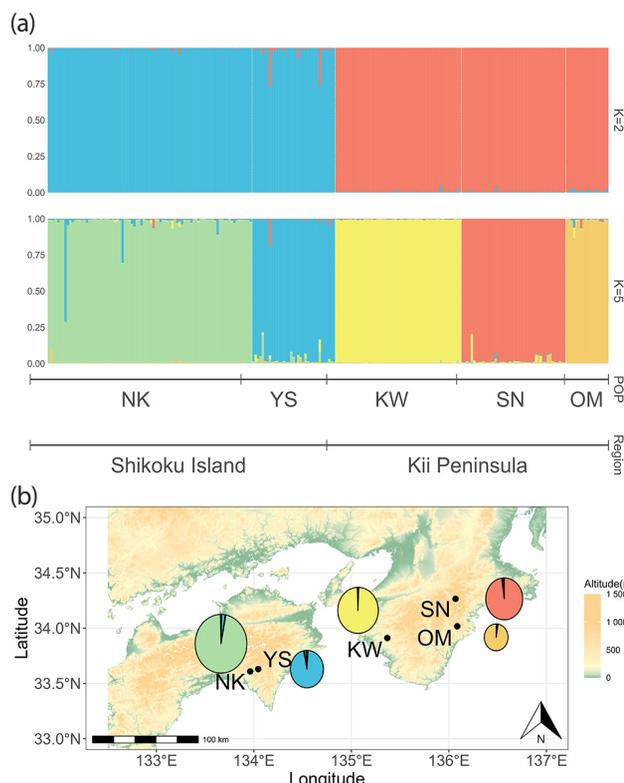


図 2. トガサワラショウロの集団遺伝構造 (Abe et al. (2024) から許諾を得て転載)。STRUCTURE bar plot (a) とその地理的分布 (b) を示す。円グラフのサイズはサンプル数、色は対立遺伝子組成に基づく遺伝的に異なるクラスターを表す。KW: 川又観音, NK: 西ノ川, OM: 大又, SN: 三ノ公, YS: 安田川。

表 1. トガサワラショウロ集団の F_{ST} (Abe et al., 2024 より引用)

Population	KW	SN	OM	YS	NK
KW	–				
SN	0.152*	–			
OM	0.191*	0.163*	–		
YS	0.188*	0.200*	0.176*	–	
NK	0.177*	0.198*	0.171*	0.075*	–

*: 有意な F_{ST} 値 ($P < 0.05$)。Population の表記は本文参照。

谷に隔てられたショウロ属の集団間で、強い遺伝的分化 ($F_{ST} = 0.054-0.258$) が報告されている (Grubisha et al., 2007)。一方、風で胞子を分散するヌメリイグチ属では、数百 km 離れていても遺伝的分化は最小限 ($F_{ST} = 0.00-0.15$) にとどまる (Rivera et al., 2014)。これらの結果は、生息地の分断化が遺伝子流動に与える影響は、地下生菌の方が大きいことを示している。

DIYABC-RF (Collin et al., 2021) によるデモグラフィック解析では、遺伝子流動の制限が、紀伊半島と四国の間では約 6000 世代前、四国内の最も近い集団間では約 1500 世代前から続いていることが示された。花粉化石記録から、最終氷期に四国と紀伊半島の低地に広く分布していたトガサワラが、後氷期には山岳地帯へ縮小したことが知られている (Ooi, 2016)。このため、トガサワラショウロの直近の集団分岐は、最終氷期極大期の終盤 (約 19,000 年前) に対応する可能性がある。この場合、紀伊半島と四国の集団分岐は、両者が陸続きだった約 76,000 年

表 2. トガサワラショウロの集団遺伝指標 (±Standard error) (Abe et al., 2024 より引用)

Population	A_e	H_o	H_E	A_r	F_{IS}
KW	1.74 (±0.13)	0.324 (±0.043)	0.364 (±0.046)	2.94 (±0.29)	0.120 (±0.045)*
SN	2.31 (±0.27)	0.395 (±0.062)	0.437 (±0.063)	3.99 (±0.49)	0.106 (±0.041)*
OM	2.21 (±0.19)	0.428 (±0.057)	0.460 (±0.056)	3.10 (±0.26)	0.098 (±0.057)
YS	2.37 (±0.19)	0.476 (±0.041)	0.524 (±0.041)	3.76 (±0.28)	0.106 (±0.034)*
NK	2.52 (±0.31)	0.444 (±0.061)	0.464 (±0.065)	4.00 (±0.50)	0.049 (±0.018)*
Total	2.17 (±0.10)	0.400 (±0.024)	0.438 (±0.024)	5.27 (±0.55)	-

A_e : 有効な対立遺伝子数. A_r : アレリックリッチネス. F_{IS} : 近交係数. H_o : ヘテロ接合度の観察値. H_E : ヘテロ接合性の期待値. *: 有意な F_{IS} 値 ($P < 0.05$). Population の表記は本文参照.

前に生じたと考えられる。よって、生息地の分断化は人為起源ではなく過去の気候変動や関連する生物地理イベントで引き起こされたと考えられる。

トガサワラショウロの遺伝的多様性は、他のショウロ属 (例: ショウロ, $H_o = 0.438-0.612$, $H_E = 0.611-0.696$; 阿部ら (2018)) や宿主であるトガサワラ ($H_o = 0.500-0.683$, $H_E = 0.559-0.628$; Abe et al. (2024)) よりも低下していた (表 2)。また DIYABC-RF 解析で長期間の集団隔離が予測された紀伊半島の 3 集団では、四国の 2 集団より遺伝的多様性が低かった (表 2)。これらの結果は、集団隔離が絶滅危惧菌類の遺伝的多様性の減少を引き起こすことを示している。また、トガサワラショウロ集団の有効集団サイズは、絶滅が懸念されるレベル ($N_e = 9.0-58.0$) まで低下していた。有効集団サイズは遺伝的多様性の損失を調整した集団サイズで、保全遺伝学で重要なパラメータである (Frankham et al., 2010)。一般的に、 $N_e > 50$ (1 世代あたりの 1% の近親交配を許容) が短期的絶滅の回避に必要とされるが (Franklin, 1980)、トガサワラショウロでは 5 集団中 4 集団で、この値を下回っていた。近交係数 ($F_{IS} = 0.049-0.120$) も高く、4 集団で有意であったため、近交弱勢が懸念される (表 2)。実際、トガサワラショウロは残存するトガサワラ林ではほぼ共生しておらず (Murata et al., 2013)、子実体も稀である (Mujic et al., 2014; 折原, 2019)。これは、北米でダグラスファーに普遍的に共生し、多くの子実体を形成する *R. vinicolor* や *R. vesiculosus* とは対照的である (Molina et al., 1999)。

トガサワラショウロとトガサワラの集団遺伝構造 (SSR マーカー 6 遺伝子座で解析) を比較したところ、両者の F_{ST} 値に有意な相関があり集団分化の系統樹も同じ樹形を示した (図 3)。これにより、両者が共通の遺伝的分化の過程をたどってきたことが示唆された。一方で、遺伝的分化はトガサワラショウロでかなり進行していた。この理由の 1 つに、遺伝子流動メカニズムの違いがあると考えられる。トガサワラを含む針葉樹は、花粉を大量に放出し、長距離にわたる遺伝子流動を行う。たとえば、*Pinus sylvestris* の花粉の約 4.3% は 30 km 以上移動する (Robledo-Arnuncio & Gil, 2005)。実際、地理的障壁により遺伝子流動が制限されているトガサワラショウロとは対照的に、トガサワラでは各地域の最も近い集団間で遺伝的分化は有意でなかった (Abe et al., 2024)。

以上より、トガサワラショウロの絶滅リスクが宿主生息地の分断

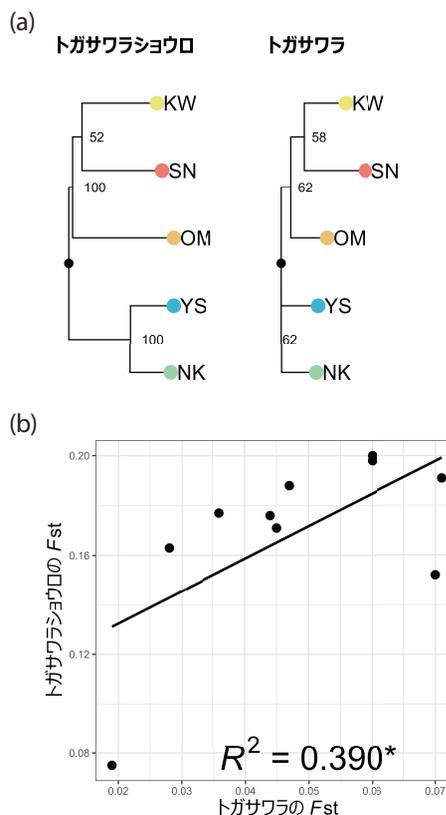


図 3. トガサワラショウロおよびトガサワラ集団の近隣結合法 (Neighbor-Joining method) 系統樹 (a) と F_{ST} の比較 (b) (Abe et al., 2024 より許諾を得て転載). 系統樹中の数字はブートストラップ値を示す. *: $P < 0.05$. KW: 川又観音, NK: 西ノ川, OM: 大又, SN: 三ノ公, YS: 安田川.

化によって高まることが示された。本研究は、森林生態系で重要な役割を果たしながら、これまで見過ごされてきた菌類を含む微生物の保全の必要性を強調するものである。さらに、Abe et al. (2024) では、保全に向けた具体的な施策 (保全単位の設置、生息域内および域外保全、遺伝的救助など) を提案している。詳細は、当該文献を参照されたい。菌類は、菌根菌を代表として他の生物との相互作用を通じて生態系を支える重要な存在である。そのため、菌類の絶滅が他の生物群に波及することは明白であり、保全の必要性は極めて高い。一方で、菌類における絶滅リスクの評価や遺伝的情報の活用は、現状ではほとんど進んでいない。特に本稿が示すように、地下生菌は地上に子実体を形成する菌類と比較して絶滅リスクが高く、その評価が急務である。本研究をきっかけに、地下生菌を含む菌類の保全への

認識が広がり、より多くの方々とともに菌類保全研究を進められることを願う。

謝辞

本研究は、Abe et al. (2024) Habitat fragmentation strongly restricts gene flow in endangered ectomycorrhizal fungal populations: Evidence from *Rhizopogon togasawarius*, specific to *Pseudotsuga japonica*, across the entire distribution range. *Molecular Ecology* 33: e17533. として発表された。本稿の執筆にあたり、共著者であり研究デザイン設計および論文執筆にご指導を賜りました奈良一秀教授に深く感謝申し上げます。また、共著者で SSR マーカーの開発を担当した Gan Lu 氏、研究デザイン設計にご協力いただいた村田政徳博士に厚く御礼申し上げます。さらに、サンプリングにご協力いただいた松田陽介教授、岡田経太博士、岩泉正和博士、酒井敦博士に感謝の意を表します。本研究は、JSPS 科研費 (15H02449、18H03955、23H00340) の助成を受けて実施されました。

引用文献

- 阿部寛史・田淵諒子・奥田康仁・松本晃幸 (2018) 三つの異なる空間スケールにおける SSR マーカーを用いた外生菌根菌シヨウロの遺伝構造解析. *日本森林学会誌* 100: 8–14.
- Abe H., Gan L., Murata M., Nara K. (2024) Habitat fragmentation strongly restricts gene flow in endangered ectomycorrhizal fungal populations: Evidence from *Rhizopogon togasawarius*, specific to *Pseudotsuga japonica*, across the entire distribution range. *Molecular Ecology* 33: e17533.
- Charlesworth D., Willis J.H. (2009) The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics* 10: 783–796.
- Collin F., Durif G., Raynal L., Lombaert E., Gautier M., Vitalis R., Marin J., Estoup A. (2021) Extending approximate Bayesian computation with supervised machine learning to infer demographic history from genetic polymorphisms using DIYABC Random Forest. *Molecular Ecology Resources* 21: 2598–2613.
- Fahrig L. (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34: 487–515.
- Frankham R., Ballou J.D., Briscoe D.A. (2010) *Introduction to conservation genetics* (2nd ed.). Cambridge University Press, Cambridge.
- Franklin I.R. (1980) Evolutionary change in small populations. In: Soulé M.E., Wilcox B.A. (eds.) *Conservation biology: An evolutionary-ecological perspective*. Sinauer Associates, Massachusetts, pp. 135–149.
- Glassman S.I., Levine C.R., DiRocco A.M., Battles J.J., Bruns T.D. (2016) Ectomycorrhizal fungal spore bank recovery after a severe forest fire: Some like it hot. *The ISME Journal* 10: 1228–1239.

- Grubisha L.C., Bergemann S.E., Bruns T.D. (2007) Host islands within the California northern Channel Islands create fine-scale genetic structure in two sympatric species of the symbiotic ectomycorrhizal fungus *Rhizopogon*. *Molecular Ecology* 16: 1811–1822.
- IUCN. (2023) The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2023-1. Available from <https://www.iucnredlist.org> (retrieved 29 Mar. 2024).
- Mujic A.B., Hosaka K., Spatafora J.W. (2014) *Rhizopogon togasawariana* sp. nov., the first report of *Rhizopogon* associated with an Asian species of *Pseudotsuga*. *Mycologia* 106: 105–112.
- Mujic A.B., Huang B., Chen M., Wang P., Germandt D.S., Hosaka K., Spatafora J.W. (2019) Out of western North America: Evolution of the *Rhizopogon-Pseudotsuga* symbiosis inferred by genome-scale sequence typing. *Fungal Ecology* 39: 12–25.
- Molina R., Trappe J.M., Grubisha L.C., Spatafora J.W. (1999) *Rhizopogon*. In: Cairney J.W.G., Chambers S.M. (eds.) *Ectomycorrhizal fungi key genera in profile*. Springer Berlin, Heidelberg, pp. 129–161.
- Murata M., Kinoshita A., Nara K. (2013) Revisiting the host effect on ectomycorrhizal fungal communities: Implications from host–fungal associations in relict *Pseudotsuga japonica* forests. *Mycorrhiza* 23: 641–653.
- Murata M., Nagata Y., Nara K. (2017) Soil spore banks of ectomycorrhizal fungi in endangered Japanese Douglas-fir forests. *Ecological Research* 32: 469–479.
- Okada K.H., Abe H., Matsuda Y., Nara K. (2022) Spatial distribution of spore banks of ectomycorrhizal fungus, *Rhizopogon togasawarius*, at *Pseudotsuga japonica* forest boundaries. *Journal of Forest Research* 27: 308–314.
- Ooi N. (2016) Vegetation history of Japan since the last glacial based on palynological data. *Japanese Journal of Historical Botany* 25: 1–101.
- 折原貴道 (2019) トガサワラシヨウロ *Rhizopogon togasawariana* の和歌山県における初記録. *Truffology* 2: 18–19.
- Peay K.G., Garbelotto M., Bruns T.D. (2009) Spore heat resistance plays an important role in disturbance-mediated assemblage shift of ectomycorrhizal fungi colonizing *Pinus muricata* seedlings. *Journal of Ecology* 97: 537–547.
- Rivera Y., Burchhardt K.M., Kretzer A.M. (2014) Little to no genetic structure in the ectomycorrhizal basidiomycete *Suillus spraguei* (Syn. *S. pictus*) across parts of the northeastern USA. *Mycorrhiza* 24: 227–232.
- Robledo-Armuncio J., Gil L. (2005) Patterns of pollen dispersal in a small population of *Pinus sylvestris* L. revealed by total-exclusion paternity analysis. *Heredity* 94: 13–22.
- Smith S.E., Read D. (2008) *Mycorrhizal symbiosis* (3rd ed.). Academic Press, London.
- Tamaki S., Isoda K., Takahashi M., Yamada H., Yamashita Y. (2018) Genetic structure and diversity in relation to the recently reduced population size of the rare conifer, *Pseudotsuga japonica*, endemic to Japan. *Conservation Genetics* 19: 1243–1255.