

氏 名(本 籍)	増 ^{ます} 原 ^{はら} 学 ^{がく} (三 重 県)
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 963 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	農 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	ネジバナと <i>Rhizoctonia</i> 属菌の共生に関する生態学的研究
主 査	筑波大学教授 Ph. D. 勝 屋 敬 三
副 査	筑波大学教授 農学博士 上 田 堯 夫
副 査	筑波大学助教授 農学博士 柿 嵐 眞
副 査	筑波大学助教授 理学博士 徳 増 征 二

論 文 の 要 旨

本論文は自然界に於ける地生ランの 1 種ネジバナ (*Spiranthes sinensis* var. *amoena*) とその根と共生する菌根菌の関係を調査し, *in vitro*における共生現象と自然界のそれとの差異を明らかにするとともに, ネジバナから分離した菌根菌の優占種の遺伝的変異を非特異的にエステラーゼパターンを用いて明らかにし, また遺伝的に異なる菌株の分布状態を調査したものである。

その概要は次の通りである。

1) ネジバナ生息地からの *Rhizoctonia* 属菌の分離

ネジバナ自生地の試験区に, 1m 間隔にグリッドを設け, ネジバナ成体の分布を調査し, 得られる 210ヶ所の交点にガーゼに包んだネジバナ種子を埋土し, 8 週間後ガーゼを回収してネジバナ種子の発芽の有無を調査した。その結果, 189ヶ所よりガーゼの回収に成功し, うち 67ヶ所のガーゼで種子の発芽 (プロトコーム形成) が認められた。プロトコームより菌根菌の分離を行った結果, 27ヶ所のプロトコームより 27菌株の菌根菌が分離され, うち 26菌株は *Rhizoctonia repens* であり, 1 菌株は *R. solani* であった。また, ネジバナ成体 20 個体の根より菌根菌の分離を行った結果, 18 個体から 31 菌株の菌根菌が分離され, うち 30 菌株は *R. repens* であり, 1 菌株は *R. solani* であった。これより, ネジバナは種子発芽および成体においても *R. repens* と密接な関係を有することが明らかになった。

次にネジバナ生息地に生息する *R. repens* 以外の *Rhizoctonia* 属菌の種類を調査するため試験区内の 210ヶ所でソバ茎による埋土法により *Rhizoctonia* 属菌の分離を行った。その結果, 24ヶ所より 33 菌株の *Rhizoctonia* 属菌が得られた。そのうち 29 菌株が binucleate *Rhizoctonia*, *Waitea circinata* 1 菌株, *R. solani* 1 菌株 (既知の融合群と融合せず) および *Rhizoctonia* spp. 2 菌株であった。以上の

結果よりネジバナ生息地には*R. repens*のみならず他の*Rhizoctonia*属菌も生息していることが明らかとなった。

2) ネジバナ生息地より分離された*Rhizoctonia repens*の非特異的エステラーゼパターンに関する遺伝的変異

試験区内のネジバナの成体根およびプロトコームより分離された*R. repens*の菌株と本試験区以外から分離された*R. repens*のエステラーゼパターンを比較した。その結果、ネジバナ試験区には少なくとも29の遺伝的に異なる*R. repens*が生息していることが明らかになった。また、同一エステラーゼパターンを有する菌株は比較的近いところより分離される傾向が認められたが、同一の成体根より分離した菌株が異なるエステラーゼパターンを有することも明らかとなり、遺伝的に異なる菌株が棲み分けしていないことが示唆された。さらにネジバナの根およびプロトコームから分離された*R. repens*の菌株が同一のエステラーゼパターンを示すものが有ることより、菌株により器官特異的に感染することはないことを示した。また、地理的に異なる地点より分離された*R. repens*のエステラーゼパターンは全て異なることが明らかとなった。

3) ラン科植物以外から分離された*Rhizoctonia*属菌のネジバナ種子の共生発芽誘導および初期生育促進効果

ネジバナは自然界では*R. repens*と密接な関係を有していることが明らかになったが、*in vitro*における種子発芽時のネジバナと菌類の関係を調査するため、植物病原菌などネジバナ生息地以外より分離されたbinucleate *Rhizoctonia*, *R. solani*, *Waitea circinata*, *Sebacina vermifera*, さらにネジバナ生息地より分離された*R. repens*以外の*Rhizoctonia*属菌およびサツマチドリ、ネジバナ、テガタチドリより分離された*R. repens*の計142菌株を用いてネジバナ種子の共生発芽実験を行った。その結果、binucleate *Rhizoctonia*68菌株中61菌株、*R. solani*68菌株中54菌株および*R. repens* 3菌株中3菌株で共生発芽が認められた。しかし*Waitea circinata*および*Sebacina vermifera*の接種区では種子発芽は認められなかった。さらに、ネジバナ試験区より分離された*R. repens*以外の*Rhizoctonia*属菌33菌株中30菌株でも共生発芽が認められた。これらの結果よりネジバナは自然界においては*R. repens*と非常に密接な関係を有しているが*in vitro*においてはさまざまな*Rhizoctonia*属菌により共生発芽が誘導されることが明らかとなった。以上のように本研究結果はネジバナと菌類との種子発芽時の関係は、自然界と*in vitro*では大きく異なることを示した。

審 査 の 要 旨

ラン科植物の種子の共生発芽は古くから知られているが、これらは全て*in vitro*の実験によるもので自然界での共生発芽は全く不明であった。

本研究で種子埋土法を開発して、初めて、自然条件下でラン科植物（ネジバナ）の種子の共生発芽に成功したことは高く評価できよう。本方法によって得られたプロトコームとネジバナ成体の根から得られた菌根菌は大部分が*Rhizoctonia repens*であることを明らかにした。同時に、同一のネジ

バナ生息地より他の *Rhizoctonia* 属菌を分離し、これらの菌株および植物病原菌等の菌株とネジバナ種子の共生発芽を *in vitro* で行い、多くの菌株が共生能力を有することを明らかにした。この結果よりネジバナは自然界では *R. repens* と特異的関係を持つことを明らかにし、*in vitro* 実験により自然界の現象を推測する危険性を明確に示し、従来、*in vitro* 実験のみにより菌根菌の寄主特異性を論じていることに問題があることを示したことは高く評価される。

本研究は著者の独創的発想、真剣なる研究態度および優れた技術・観察力によるもので、今後のラン科植物と共生菌の生理、生態学に大きな影響を与えるものと断言できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。