

氏名	藤森 祥平		
学位の種類	博士（農学）		
学位記番号	博乙第 3009 号		
学位授与年月日	令和 3 年 6 月 30 日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	ネジバナと菌根共生する <i>Tulasnella</i> 属菌の多様性および生態に関する研究		
主査	筑波大学教授	農学博士	山岡 裕一
副査	筑波大学教授	博士（農学）	上條 隆志
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	岡根 泉
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	廣田 充
副査	筑波大学助教	博士（農学）	阿部 淳一 ピーター

論 文 の 要 旨

ラン科植物は、野生種約27,000種を有し、被子植物の中でキク科と並んで最も大きな科を構成するとともに、これまでに最も品種改良が行われてきた園芸上重要な植物群である。南極大陸を除く世界各地に分布している一方、分布が非常に局所的で絶滅が危惧される種が多く含まれている。ラン科植物は、種子発芽や生長のために適切な菌と菌根共生する必要があるため、その分布は菌根菌の分布に大きく影響を受ける。その中で、地生ランの1種であるネジバナ (*Spiranthes australis*) は、日本を含む太平洋西岸からヒマラヤ山岳までの広い範囲に分布し、各自生地で大規模な個体群を維持しているにもかかわらず、主として *Tulasnella deliquescens* 1種を菌根菌として利用していると考えられてきた。著者はこの点に疑問を持ち、筑波大学構内（茨城県つくば市）のネジバナ菌根から菌類の分離を行った結果、多様な *Tulasnella* 属菌を分離したが、それらの分類学的な位置づけ、菌根共生能力については不明のままであった。そこで著者は、本論文で、ネジバナと菌根共生する *Tulasnella* 属菌の多様性を解明し、*Tulasnella* 属菌とネジバナの相互関係を明らかにすることを目的とした。

著者は第1章で、ラン科植物と菌根菌の相互関係、ネジバナの生態、ネジバナの菌根菌に関する研究史についてまとめ、さらに著者自身の予備的調査結果について解説し、本研究の目的を述べている。

第2章では、著者は、筑波大学構内のネジバナ成株から自身で分離した *Tulasnella* 属菌22株を供試し、形態学的観察および分子系統学的解析を行い、分類学的位置づけの検討を行った。その結果、数珠状細胞の形状、数珠状細胞鎖の分岐様式にもとづき4つの形態グループに、rDNA 5.8S領域とD1/D2領域の結合配列を用いた分子系統学的解析により5つのグループに類別できることを示した。4形態グループのうち3グループは分子系統学的解析によるグループと一致した。著者は、この3グループは形態的特徴が既知種と異なることから、未記載種と結論し、*T. dendritica*、*T. ellipsoidea* および *T. cumulopuntioides* の3新種として記載した。また、もう一つの形態グループは既知種の *T. deliquescens* と形態的特徴が一致したが、その集団内に分子系統解析結果により明確に識別できる2つのグループが検出されたため、著者は、それぞれを別種として扱うこと (*T. deliquescens* AおよびB) を提唱した。以上の研究成果により、著者は、ネジバナ成株には *Tulasnella* 属菌5種が菌根共生することを明らかにした。

第3章では、著者は、ネジバナ成株から分離された *Tulasnella* 属菌5種がネジバナの種子発芽時および初期生長期に菌根共生できるかを調べるために、接種実験および自生地播種実験を行った。接種実験では、各菌を培養した2%オートミール寒天平板上に表面殺菌したネジバナ種子を播種し培養した。その結果、著者は *Tulasnella* 属菌5種全てがネジバナの種子発芽を促進するが、その後の初期生長期では *T. deliquescens* A、*T.*

deliquescens Bおよび*T. ellipsoidea*の3種のみがシュート形成までの生育をサポートすることを明らかにした。また、自生地播種実験では、シードポケット法を用いて種子を自生地の土壌中に埋設した結果、プロトコムからこれら3種のみが検出されたことから、この3種のみが初期成長をサポートしていると考察した。第2章、第3章の結果を総合的に考察して、著者は、*Tulasnella*属菌5種間でネジバナ初期生長期における菌根共生能力が異なり、*T. deliquescens* A、*T. deliquescens* Bおよび*T. ellipsoidea*の3種は、種子発芽時と初期生長期、成株期全てでネジバナの生育をサポートするが、*T. dendritica*と*T. cumulopuntioidea*の2種は、初期生長期のサポートができないと結論した。

第4章で著者は、日本国内に分布するネジバナが菌根共生している*Tulasnella*属菌を比較調査するために、北海道から九州までの38地点のネジバナの根を供試し、rDNA 5.8S領域の配列に基づき菌根内に存在する*Tulasnella*属菌を種同定した。その結果、*T. deliquescens* A、*T. deliquescens* B、*T. ellipsoidea*および*T. cumulopuntioidea*の4種、ならびに未同定菌*Tulasnella* sp1を検出した。また、*T. deliquescens* Aと*T. ellipsoidea*は北海道から九州までの広範囲で、*T. deliquescens* Bと*T. cumulopuntioidea*は関東以西で検出されたことから、著者は、ネジバナ菌根菌としての地理的分布は、種ごとに異なる傾向を有することを明らかにした。さらに著者は、菌根菌の分布と環境要因との関係性を統計的に解析し、後者2種の菌根菌としての分布は低温期間により制限されていることを示唆した。

第5章では、著者は上記の研究成果を総合的に考察し、ネジバナが利用している*Tulasnella*属菌5種を、菌根共生できる生育段階と菌根菌として利用されていた地域の差異によって、4つのカテゴリーに類別した。すなわち、広範囲に分布しネジバナの種子発芽時、初期生長期、成株期の全ての生育段階で菌根共生可能な*T. deliquescens* Aおよび*T. ellipsoidea*、地域は限られるが全ての生育段階で菌根共生可能な*T. deliquescens* B、初期生長期はサポートできないものの広範囲に分布し成株と菌根共生する*T. cumulopuntioidea*、地域も菌根共生可能な生育段階も限られる*T. dendritica*に類別した。広範囲に分布しネジバナの全ての生育段階で菌根共生可能な*T. deliquescens* Aおよび*T. ellipsoidea*に加え、地域の環境や生育段階によってはさらに別の種も活用できることが、ネジバナが広範囲に分布し大規模な個体群を維持するために有利に働いていると考察した。また、最後に著者は、ラン科植物の保全や園芸への活用のために、各菌種の特性を考慮し、環境に合わせて適切な菌根菌を選択する必要性を指摘した。

審 査 の 要 旨

これまで、ネジバナは主として*T. deliquescens* 1種を菌根菌として利用していると考えられていたが、著者の研究により、*Tulasnella*属菌5種を利用していることが明らかになった。また、著者は、この5種すべてがネジバナの種子発芽時、初期生長期および成株期の全てで菌根共生できるのではなく、種によって菌根共生可能な生育段階が異なること、また日本国内でネジバナと菌根共生している地域の範囲が異なること、ネジバナは機能が異なる複数の菌根菌を野外で利用して生活していることなど、ネジバナと菌根菌の複雑な相互関係を明らかにした。これらの研究成果は、ランと菌根菌の相互関係に関する新たな知見であり、菌類の分類学、生態学などの基礎研究分野の発展に寄与するとともに、菌根菌を活用したラン科植物の保全や園芸等の応用研究分野にとっても有用な情報であると高く評価することができる。

令和3年5月11日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び学力の確認を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。