

氏名(本籍)	かね こ れい こ 金子 令子(東京都)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博乙第1981号
学位授与年月日	平成16年1月31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	農学研究科
学位論文題目	ブナにおける内生菌類の分類・生態学的研究

主査	筑波大学教授	農学博士	柿 篤 眞
副査	筑波大学教授	農学博士	中 村 徹
副査	筑波大学助教授	農学博士	山 岡 裕 一
副査	筑波大学教授	理学博士	徳 増 征 二

論文の内容の要旨

樹木に内生する菌類については、現在まで主に針葉樹において研究されてきており、子のう菌類や不完全菌類に所属する多様な種類が報告され、これらは、樹木と密接な生態的關係を有していることが明らかになってきている。ヨーロッパブナ (*Fagus sylvatica*) においては、生育地域や樹木の部位により内生菌類の種構成が異なることやそれらの出現頻度には季節的変動があること、さらに、種によっては、宿主特異性を有し、ヨーロッパブナの生育に大きく貢献していることが明らかになってきている。ブナの分布域や生育環境が異なると、内生菌類の種構成や、それらとブナとの生態的關係は、大きく異なるものと推察される。日本において、ブナ (*Fagus crenata*) 林は冬季多雪湿潤の日本海型気候地域に分布するものと冬季小雪で比較的乾燥した太平洋型気候地域に分布するものがあり、そのうち前者の属する東北と北陸のブナ林において内生菌類について報告されているが後者については研究が行われていない。

そこで、本研究では、太平洋型気候地域に属する茨城県北部の小川学術参考保護林内のブナに存在する内生菌類の種構成を明らかにするため、生葉、葉柄、当年生枝および冬芽から分離と同定を行うとともに、主要な内生菌類の出現頻度の季節的変動を明らかにすること、さらに、新種として記載した主要な内生菌の1種である *Mycosphaerella buna* について、ブナとの関係を明らかにするため、その生活環を解明することを目的とした。

(1) 内生菌類の種構成および主要な内生菌類の季節変動

ブナの生葉、葉柄、当年生枝および冬芽の種構成とその出現頻度を明らかにするため、3月から10月にかけて試料を採取し、表面殺菌後、内生菌類の分離・培養を行った。分離菌株は、形態学的観察を行い同定し、それぞれの種の出現頻度を求めた。その結果、生葉からは16種、葉柄からは15種、当年生枝からは16種、冬芽からは8種が出現した。また、部位によってその構成種は異なることも明らかとなった。これらのことから、本試験地のブナには多様な菌類が内生していることが明らかになったが、これらの中で高頻度に分離された菌類は、*M.buna*, *Ascochyta fagi*, *Tritirachum sp.*, *Periconiella sp.*, *Xylaria sp.*, *Tubakia dryina*, *Phomopsis sp.* の7種であった。これら7種の出現部位と出現頻度は、それぞれ異なり、ブナの生育と大きな関係を有

していることが示唆された。なお、生葉のみから出現した *M.buna* については、分類学的検討の結果、新種として記載した。また、上記7種の中で生葉から出現した5種について、生葉における季節変動を明らかにするため、時期別の出現頻度を調べた結果、出現時期により、3パターンに類別できることが明らかとなった。すなわち *Tritirachium* sp., *Periconiella* sp. は5月から、*M.buna*, *A.fagi* は、7月から、*Xylaria* sp. は、8月後半から出現した。また、これらの種の出現頻度は落葉時期まで増加した。これらのことから、種により生葉への感染時期が異なることが示唆された。

(2) *Mycosphaerella buna* の生活環

本種の精子器と偽子のう殻は、落葉した枯死葉に形成されることが知られている。そこで、これらの形成時期と子のう胞子の成熟時期を明らかにするため、11月から翌年10月に枯死葉を採取し、これらの形成の有無を観察するとともに、子のう胞子の発芽実験を行った。その結果、精子器は落葉直後の枯死葉に、その直後に偽子のう殻が形成されるが、子のう胞子が成熟するのは、5月のブナの開葉時期と一致することが明らかになった。また、生葉への感染時期を明らかにするため、開葉前に枝を透明な袋で被覆し、5月から10月に試料を採取し、感染の有無を調査するとともに、無感染ブナ実生苗を試験地に静置し、7月および10月に苗を回収し、感染の有無を調査した。その結果、被覆した生葉には感染しないこと、7月以降に感染が起こることが明らかになった。さらに、生葉への侵入・感染部位を明らかにするため、実生苗の生葉に分生子および子のう胞子懸濁液を接種し、経時的に試料を採取し、光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡による観察を行った。その結果、これらの胞子は、葉表面で発芽し、孔辺細胞または気孔から侵入することが認められた。また、感染菌糸は、表皮下または海綿状組織の細胞間隙に存在することも明らかになった。これらの実験から、本種は、落葉後すぐに精子器を形成し、ブナの開葉時期にあたる5月に、枯死葉上に形成した偽子のう殻内の子のう胞子を成熟させ、これにより、生葉へ感染し、その後生葉内の細胞間隙に菌糸状態で落葉時期まで潜在するという生活環を有することが示唆された。

以上の研究結果より、本試験地のブナには、多くの菌類が内生していることが、明らかになったが、内生菌類の種構成はブナの生育環境や部位により大きく異なることが明らかとなった。また、これらの種は、その生育環境において、ブナの年間の生育サイクルと密接な関係を持った生活環を有していることが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

樹木には多様な菌類が内生していることが報告され、これらは、樹木の生育やその生育環境と密接な関係を有していることが明らかになってきている。本研究は、太平洋型気候地域に属する茨城県北部の小川学術参考保護林内のブナについて、その内生菌類の種構成や季節変動を明らかにすること、さらに、主要な内生菌の1種的生活環を解明し、ブナとの関係を明らかにすることを目的として行ったものである。

研究の結果、本試験地のブナには、高頻度に出現した7種を含めて多くの内生菌類の存在が認められ、これらはブナの部位や時期によってその構成種や出現頻度が異なること明らかにしている。なお、生葉のみから出現した *M.buna* については、分類学的検討の結果、新種として記載している。また、ブナの主要な内生菌類として認められた5種について、生葉での季節変動を調べた結果、これらは出現時期により3パターンに類別できたことから、種により感染時期などが異なる可能性があることを指摘している。さらに、主要な内生菌類の1種である *Mycosphaerella buna* について、精子器と偽子のう殻の形成時期、子のう胞子の成熟時期、生葉への感染時期、さらに、生葉への侵入・感染部位について調査し、本種は、落葉後すぐに精子器を形成し、ブナの開葉時期に合わせて、枯死葉上に形成した偽子のう殻内の子のう胞子を成熟させ、これに

より、生葉へ感染し、その後生葉内の細胞間隙に菌糸状態で落葉時期まで潜在するという、ブナの生育サイクルと極めて密接な関係をもった生活環を有することを明らかにしている。

以上のように、本研究は、ブナの内生菌類の種構成やその生態について、優れた分離・培養技術と綿密な野外調査により明らかにしたものである。この成果は、内生菌類の生態や内生菌と樹木との関係について重要な知見を与えるものであると判断する。

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。