

論文審査の結果の要旨

氏名 橋詰 洋介

本論文は、日本の冷温帯および暖温帯の森林において優占するブナ科樹木、特にブナおよびアカガシについて、葉植物内生菌群集を地理的に離れた各地において調べることにより、気温や森林タイプと内生菌群集との関係を明らかにしたものである。本論文は4章からなり、第2章、第3章は福田健二、佐橋憲生らとの共同研究であるが、論文提出者が主体となってデータの収集、解析、論文執筆を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断した。

第1章においては、植物内生菌に関する既往研究を概観し、本論文の問題意識を明らかにした。内生菌は宿主の生育する地域の気候帯や標高差から生じる気温の違い、酸性雨による影響、宿主個体の生育的衰退、分布の分断(孤立)などの環境因子により、その群集組成が変化を示す可能性が考えられることから、本研究では樹木の葉内生菌の群集構造を広域にわたって比較することにより、内生菌の群集構造と環境の関係を明らかにすることを目的とした。

第2章においては、従来の研究が、研究者ごとに異なる分離・培養方法を用いていたために結果の相互比較が困難であったことに鑑み、広域の材料を比較するのに適切な研究の材料および方法を確立して本研究における方法を記述した。本研究では、既往研究との菌類相の比較が可能で、日本に広く分布するブナ科樹種を対象とし、それぞれの樹種について、広域の材料から同一の分離法・培養法を用いて内生菌の分離を行った。調査対象の宿主は、国内に広く分布するブナ (*Fagus crenata*) およびアカガシ (*Quercus acuta*) とし、広域の材料から同一の分離法・培養法を用いて内生菌の分離を行った。

ブナ葉内生菌相の季節変化を2008年4月~6月に検討し、また、分離条件の検討をおこなった上で、広域の調査地でのブナ葉の調査は2004~2007年7月~9月に、アカガシ葉の調査は、2004~2006年7月~9月に行った。ブナ葉の採取地は、田沢湖(秋田県)、赤安山(新潟県)、小丸(神奈川県)、尾鈴山(神奈川県)の4箇所のブナ純林、高尾山(東京都)、吾国山(茨城県)、筑波山(茨城県)の3箇所の落葉樹混交林、大洞(長野県)のブナ孤立林、男女岳(秋田県)の標高800、1000および、1200mの3地点の各地点、アカガシの葉は、尾鈴山の標高900m・1100m・1300mの3地点、高尾山の標高400m・600mの2地点から採取した。採取試料は、アンチホルミン・エタノール系で表面殺菌し、ブナについては1/2PDA+PCA平板培地上に、アカガシについては、通常の1/2PDA平板培地に静置して、20℃暗黒条件下で1ヶ月間~3ヶ月間、培養し、分離した菌叢を孢子形態・サイズ・形成様式等により同定した。孢子未形成の種については、rDNA ITS領域のシーケンシングによりホモロジー検索を行った。気候因子の検討は、各調査地の採取日前30日間の最寄りのアメダスデータを逡減率補正し、最高・最低・平均気温、日照時間、降水量を用いた。

第3章で各現地調査および実験の結果を記述し、第4章において総合考察を行った。調査項目ごとに要約すると以下の通りである。

森林タイプ別のブナ葉内生菌相の調査では、*Ascochyta fagi* が単独で優占した。他にも、*Alternaria alternata*、*Pestalotiopsis* sp.がブナ葉偏在菌として観察された。*H'*は混交林・孤立林で高く、ブナ純林で

は菌類相は単純であった。クラスター解析の結果、ブナ葉内生菌相は、(i) ミズナラ+ブナ混交林タイプ、(ii) イヌブナ+ブナ混交林タイプ、(iii) ブナ純林タイプ a、(iv) ブナ純林タイプ b、(v) ブナ純林タイプ c、(vi) ブナ孤立林タイプ LE、(vii) ブナ孤立林タイプ CM の 7 タイプに分類された。相関分析の結果では、最高気温が低い調査地ほど *A.fagi* の ID が高くなる傾向が見られ、各パラメータは、それぞれが林地の気温と関係しているものと考えられた。すなわち、ブナ内生菌相と群集構造は気温の影響を受けることが示された。

ブナ葉における標高別の調査では、合計 17 種の内生菌の出現が確認された。優占菌は *Ascochyta fagi* であったが、標高が高くなるにつれ IF が有意に低下した。

アカガシでは、高尾山、尾鈴山の両調査地で合計 1350 サンプルを調査し 12 種の内生菌を確認した。*Tubakia rubra* および *Discula* sp., *Phomopsis* sp.1 がアカガシ葉に優占する内生菌として観察された。*T. rubra* は尾鈴山と高尾山の両方の採集地において共通したことから、アカガシ葉における遍在菌であると考えられた。気温変化に伴い、遍在菌 *T. rubra* の優占度が変化して他種と交代するという現象が明らかにされた。

以上のように、本研究により、ブナ科樹種の葉内生菌相は宿主の生育地の森林タイプや気温、混交樹種に大きな影響を受けていることが示された。また、ブナ、アカガシの両種においてみられた標高変化による優占菌種の増減は本研究で初めて明らかにされたものである。ブナ葉内生菌については、優占菌が他の菌の感染を妨げている可能性が考えられた。したがって、地球温暖化に伴う気温の変化や林分の孤立、混交林化は、植物のみならず、共生する内生菌相にも影響を及ぼす可能性がはじめて示唆されたことは、今後の森林生態系の地球環境変化への応答を考える上での基礎的知見となるものである。

したがって、博士（環境学）の学位を授与できると認める。