

氏 名 (本國籍)	久保田 真弓 (三重県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 337 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 3 月 15 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物環境科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	Study on Morphology and Colonization Preference of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (アーバスキュラー菌根菌の菌糸形態と宿主選択性に 関する研究)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教授 百町 満朗 副査 岐阜大学 教授 小泉 博 副査 静岡大学 教授 露無慎二 副査 信州大学 教授 大政 正武

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

本論文は、リョウブ、キュウリ、トマトおよびニンジンを用いてアーバスキュラー菌根菌の菌糸形態および宿主選択性について調べたものである。

#### *Clethra barbinervis* の菌根タイプ

今回供試植物として用いたリョウブ (*C. barbinervis*) はツツジ目に属する落葉小高木である。ツツジ目に属す植物の多くはエリコイド菌根を形成するのに対し、*C. barbinervis* はアーバスキュラー菌根 (AM) を形成することを明らかにした。系統的にツツジ目の中で初期に分化したと考えられるリョウブが AM を形成するという知見は、エリコイド、モノトロポイド、アービュトイド菌根および外生菌根が AM から派生したという仮説を裏付けるものとなった。

#### *Clethra barbinervis*、*Cucumis sativum*、*Lycopersicon esculentum* におけるアーバスキュラー菌根菌の菌糸形態

供試土壌を用いて *C. barbinervis*、キュウリ (*C. sativum*) およびトマト (*L. esculentum*) を栽培し、形成される AM 菌の菌糸形態と感染する AM 菌を調べた。顕微鏡下における各形態の観察と AM 菌の科に特異的なプライマーを用いて PCR による AM 菌の検出を行った。その結果、*C. barbinervis* においては *Paris-type* のみが観察されたのに対し、*C. sativum* および *L.*

*esculentum*においては同一根内でさえ *Arum* と *Paris* の両タイプが観察された。*Arum-type* が優占する *C. sativum* から抽出した DNA からは Glomaceae が強く検出された。それに対して、*Paris-type* が優占する *C. barbinervis* と *L. esculentum* から抽出した DNA からは Glomaceae は僅かしか検出されなかった。一方、Gigasporaceae などの根からも検出され、Acaulosporaceae は *C. barbinervis* からのみ検出された。一般に Glomaceae は *Arum-type* を、Acaulosporaceae と Gigasporaceae は *Paris-type* を形成する。以上のことから、宿主により感染する AM 菌が異なるものの、宿主には大きく分けて①宿主が菌糸形態を決定するタイプ、および②AM 菌自体の性質が反映されるタイプ、の 2 つのタイプが存在することが明らかとなった。

### *Clethra barbinervis*、*Cucumis sativum*、*Lycopersicon esculentum* におけるアーバスキュラー菌根菌の宿主選択性

リョウブ、キュウリおよびトマトを異なる 6 つの植生から採取した土壤で栽培したときの AM 菌宿主選択性について上述と同様の手法を用いて調べた。その結果、同一の植物種から検出される AM 菌の多様性は栽培した土壤によって異なっていた。同一の土壤で栽培した場合、植物種によって検出される AM 菌の科は異なった。Glomaceae はすべての土壤と植物の組合せから高い頻度で検出された。リョウブとトマトからはすべての AM 菌に属する科が検出されたのに対し、キュウリからは Archaeosporaceae、Paraglomaceae と Glomaceae しか検出されなかつたことから、キュウリはリョウブやトマトに比べ、AM 菌との間に強い選択性を示すことが明らかとなつた。

### アーバスキュラー菌根菌の宿主選択性にかかる宿主要因

次に、宿主選択性に関わる要因を明らかにするため、以下の試験を行った。

- 1) AM 菌に感染したリョウブまたはキュウリを spreader として、また、receiver としてリョウブまたはキュウリを単植したときと、リョウブとキュウリを混植したときの、receiver における AM 菌の感染を root compartment system を用いて調べた。リョウブを AM 菌の spreader として用いた場合、receiver であるリョウブにおける AM 菌の感染率はリョウブを単植した場合に高かつた(45%)のに対し、同条件でリョウブとキュウリの両者を receiver として混植した場合、あるいは spreader としてキュウリを用いた場合では、リョウブへの AM 菌の感染率は低くなつた(11~14%)。キュウリを spreader として用いた場合、receiver であるキュウリにおける AM 菌の感染はキュウリを単植した場合に高かつた(69%)。これらの結果は、同一の植物を通して AM 菌の感染が起つた場合、AM 菌の感染率が高くなることを示しており、混植した場合には、AM 菌の感染率は低下することを明らかにした。このことは、近隣の植物種も AM 菌の感染に影響を及ぼすことを示唆している。さらに、receiver からの AM 菌の PCR 検出を行つたところ、上述の傾向と同様の宿主選択性を確認した。すなわち、Acaulosporaceae に属する AM 菌はリョウブに対して強い宿主選択性を示し、Glomaceae に属する AM 菌間はキュウリに対して選択性を示した。Archaeosporaceae および Paraglomaceae はキュウリに強い選択性を示すが、リョウブには選択性を示さないことが明らかとなつた。

2) さらに、植物根からの浸出液が AM 菌の感染に及ぼす影響を調べた。キュウリとニンジンから採取した根浸出物を AM 菌を含む土壤で栽培したキュウリとニンジンに処理した結果、異なる植物根から採取した浸出物を処理した植物において AM 菌の感染が抑制された。また、Glomaceae と Acaulosporaceae に属する AM 菌の検出頻度はキュウリとニンジンにおいてそれぞれ減少した。

以上の結果から、植物根の浸出液は AM 菌の宿主選択性に密接に関わっていることを明らかにした。

### 審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、リョウブ、キュウリ、トマトおよびニンジンを用いてアーバスキュラー菌根菌の菌糸形態および宿主選択性について調べたものである。

今回供試植物として用いたリョウブはツツジ目に属する落葉小高木である。ツツジ目に属する植物の多くはエリコイド菌根を形成するのに対し、リョウブはアーバスキュラー菌根(AM)を形成することを明らかにした。系統的にツツジ目の中で初期に分化したと考えられるリョウブが AM を形成するという知見は、エリコイド、モノトロポイド、アービュトイド菌根および外生菌根が AM から派生したという仮説を裏付けるものとなった。

供試土壤を用いて、リョウブ、キュウリおよびトマトを栽培し、形成される AM 菌の菌糸形態と感染する AM 菌を調べた。顕微鏡下における各形態の観察と AM 菌の科に特異的なプライマーを用いて PCR による AM 菌の検出を行った。その結果、リョウブにおいては *Paris*-type のみが観察されたのに対し、キュウリおよびトマトにおいては同一根内でさえ *Arum* と *Paris* の両タイプが観察された。*Arum*-type が優占するキュウリから抽出した DNA からは Glomaceae が強く検出された。それに対して、*Paris*-type が優占するリョウブとトマトから抽出した DNA からは Glomaceae は僅かしか検出されなかった。一方、Gigasporaceae はどの根からも検出され、Acaulosporaceae は *C. barbinervis* からのみ検出された。一般に Glomaceae は *Arum*-type を、Acaulosporaceae と Gigasporaceae は *Paris*-type を形成する。以上のことから、宿主により感染する AM 菌が異なるものの、宿主には大きく分けて①宿主が菌糸形態を決定するタイプ、および②AM 菌自体の性質が反映されるタイプ、の 2 つのタイプが存在することが明らかとなった。

リョウブ、キュウリおよびトマトを異なる 6 つの植生から採取した土壤で栽培したときの AM 菌宿主選択性について上述と同様の手法を用いて調べた。その結果、同一の植物種から検出される AM 菌の多様性は栽培した土壤によって異なっていた。同一の土壤で栽培した場合、植物種によって検出される AM 菌の科は異なった。Glomaceae はすべての土壤と植物の組合せから高い頻度で検出された。リョウブとトマトからはすべての AM 菌に属する科が検出されたのに対し、キュウリからは Archaeosporaceae、Paraglomaceae と Glomaceae しか検出されなかつたことから、キュウリはリョウブやトマトに比べ、AM 菌との間に強い選択性を示すことが明らかとなった。

次に、宿主選択性に関わる要因を明らかにするため、以下の試験を行った。

- 1) AM 菌に感染したリョウブまたはキュウリを spreader として、また、receiver としてリョウブまたはキュウリを単植したときと、リョウブとキュウリを混植したときの、receiver における AM 菌の感染を root compartment system を用いて調べた。リョウブを AM 菌の spreader として用いた場合、receiver であるリョウブにおける AM 菌の感染率はリョウブを単植した場合に高かった(45%)のに対し、同条件でリョウブとキュウリの両者を receiver として混植した場合、あるいは spreader としてキュウリを用いた場合では、リョウブへの AM 菌の感染率は低くなつた(11~14%)。キュウリを spreader として用いた場合、receiver であるキュウリにおける AM 菌の感染はキュウリを単植した場合に高かった(69%)。これらの結果は、同一の植物を通して AM 菌の感染が起つた場合、AM 菌の感染率が高くなることを示しており、混植した場合には、AM 菌の感染率は低下することを明らかにした。このことは、近隣の植物種も AM 菌

の感染に影響を及ぼすことを示唆している。さらに、receiverからのAM菌のPCR検出を行ったところ、上述の傾向と同様の宿主選択性を確認した。すなわち、Acaulosporaceaeに属するAM菌はリョウブに対して強い宿主選択性を示し、Glomaceaeに属するAM菌間はキュウリに対して選択性を示した。ArchaeosporaceaeおよびParaglomaceaeはキュウリに強い選択性を示すが、リョウブには選択性を示さないことが明らかとなった。

- 2) 植物根からの浸出液がAM菌の感染に及ぼす影響を調べた。キュウリとニンジンから採取した根浸出物をAM菌を含む土壤で栽培したキュウリとニンジンに処理した結果、異なる植物根から採取した浸出物を処理した植物においてAM菌の感染が抑制された。また、GlomaceaeとAcaulosporaceaeに属するAM菌の検出頻度はキュウリとニンジンにおいてそれぞれ減少した。

1)、2)から、植物根の浸出液はAM菌の宿主選択性に密接に関わっていることを明らかにした。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

(基礎となる学術論文)

- Kubota, M., McGonigle, T.P. & Hyakumachi, M.: *Clethra barbinervis*, a member of the order Ericales, forms arbuscular mycorrhizae. *Can. J. Bot.* 79: 300-306, 2001.
- Kubota, M. & Hyakumachi, M.: Morphology and colonization preference of arbuscular mycorrhizal fungi in *Clethra barbinervis*, *Cucumis sativum* and *Lycopersicon esculentum*. *Mycoscience (in press)*
- Kubota, M., Hyakumachi, M. & Miyazawa, M.: Influence of root exudates from *Cucumis sativum* and *Daucus carota* on arbuscular mycorrhizal colonization. *Journal of Oleo Science (in press)*
- Kubota, M., McGonigle, T.P. & Hyakumachi, M.: Co-occurrence of *Arum*-and *Paris*-type morphologies of arbuscular mycorrhizae in cucumber and tomato. *Mycorrhiza (in press)*