

多摩川流域に植栽されたサクラ類の新たな腐朽 病害対策の確立に関する研究

2011年

福田 健二

東京大学大学院新領域創成科学研究科 教授

共同研究者：松下 範久（東京大学 准教授）
渡辺 直明（東京農工大学 助教）
清水 淳子（東京大学 技術職員）
森田 敏充（東京大学 自然環境学専攻修士課程）

2009－2010 年度
とうきゅう環境浄化財団
助成研究 第 2009－14 号

研究成果報告書

多摩川流域に植栽されたサクラ類の
新たな腐朽病害対策の確立に関する研究

研究代表者

東京大学大学院新領域創成科学研究科
自然環境学専攻

福田 健二

〔はしがき〕

本報告書は、とうきゅう環境浄化財団助成研究 2009 年 7 月 17 日付 第 2009-14 号『多摩川流域に植栽されたサクラ類の新たな腐朽病害被害対策の確立に関する研究』の研究成果をとりまとめたものである。

本研究では、財団法人とうきゅう環境浄化財団の助成を受けて多摩川流域のサクラ並木および公園内のサクラ植栽について調査を行い、自己負担により行った栃木県日光街道、秋田県角館市、神奈川県横浜市における調査結果を加えて、サクラ類の腐朽被害の実態の解明と新たな腐朽被害対策の基礎となるよう、研究成果をとりまとめた。

研究組織

研究代表者： 福田健二（東京大学大学院新領域創成科学研究科・教授）
研究分担者： 松下範久（東京大学大学院農学生命科学研究科・准教授）
渡辺直明（東京農工大学農学研究科・助教）
清水淳子（東京大学大学院理学系研究科附属植物園日光分園・技術職員）
研究協力者： 森田敏充（東京大学大学院新領域創成科学研究科・修士課程）

研究経費

	助成金	自己負担金	計
平成 21 年度	1,850,000	651,725	2,501,725
平成 22 年度	1,850,000	616,360	2,466,360
総計	3,700,000	1,268,085	4,968,085

研究発表

森田敏充・清水淳子・福田健二（2010）サクラ植栽樹における根株腐朽菌子実体発生の移り変わり．樹木医学会第 14 回大会

森田敏充・清水淳子・松下範久・高橋由紀子・渡辺直明・福田健二（2011）サクラ植栽地に発生したベッコウタケの空間分布とその遺伝的構造．第 122 回日本森林学会大会

目次

I. 序論	4
I-1. 街路樹・公園樹	4
I-1-1. 街路樹・公園樹の役割	4
I-1-2. 街路樹・公園樹としてのサクラ	4
I-1-3. 街路樹・公園樹の問題	5
I-2. 腐朽病害	5
I-2-1. 腐朽病害	5
I-2-2. 街路樹・公園樹の腐朽病害	6
I-2-3. 腐朽病害の診断	6
I-2-4. 腐朽病害の感染様式	7
I-3. サクラの腐朽病害	8
I-3-1. サクラの病気	8
I-3-2. サクラのべっこうたけ病・こふきたけ病	9
II. 目的	10
III. 材料・調査地	10
III-1. 材料	11
III-1-1. ベッコウタケ・コフキタケ	11
III-1-2. 形態観察による材料の同定	12
III-1-3. 遺伝子解析による材料の同定の検討	13
III-2. 調査地・調査日	14
III-2-1. 日光街道	14
III-2-2. 小金井並木	14
III-2-3. 小金井公園	14
III-2-4. 角館	14
III-2-5. 富士森公園	15
III-2-6. いずみ野	15
IV. サクラ植栽地における木材腐朽菌の発消長	16
IV-1. 各植栽地の子実体発生率と危険木	16
IV-1-1. 材料・方法	16
IV-1-2. 結果	16
IV-1-3. 考察	17
IV-2. 腐朽病害の経時変化からみた新規発生率と累積発生率,地域による発生率の差	18
IV-2-1. 材料・方法	18
IV-2-2. 結果	18

IV-2-3. 考察	21
IV-3.ベッコウタケ子実体再発生率と消失率	22
IV-3-1. 材料・方法	22
IV-3-2. 結果	22
IV-3-3. 考察	22
V. ベッコウタケの遺伝的構造解析	23
V-1. マイクロサテライトマーカーによる多型解析.....	23
V-1-1. 材料・方法	23
V-2. 植栽地内の遺伝的多様性と任意交配	24
V-2-1. 材料・方法	24
V-2-2. 結果	24
V-2-3. 考察	27
V-3. 植栽地間の遺伝的構造の相関からみた遺伝的分化	28
V-3-1. 材料・方法	28
V-3-2. 結果	28
V-3-3. 考察	28
V-4. 子実体の空間分布と遺伝的構造の相関からみた胞子分散能力	29
V-4-1. 材料・方法	29
V-4-2-1. 結果（日光街道・小金井公園）	29
V-4-2-2. 結果（全地域）	31
V-4-3. 考察	31
V-5. サクラ樹木内での腐朽菌の遺伝的構造の変化.....	32
V-5-1. 材料・方法	32
V-5-2. 結果	32
V-5-3. 考察	34
VI.総合考察.....	35
VI-1.子実体発生活消長からみた腐朽病害の実態解明	35
VI-2. 遺伝的構造の解析による感染様式の解明.....	36
VII.引用文献.....	37
謝辞.....	43

I. 序論

I-1. 街路樹・公園樹

I-1-1. 街路樹・公園樹の役割

列状に並んでいる高木またはその集団が並木で、街路上にある並木が街路樹である(渡辺 2000). 我が国における街路樹は、平安時代の律令の施行細則に果樹を植えることを規定した記述があるのが最古のものとされ、古くから植栽が行われたことが伺える(渡辺 2000). 今日に見られるような美観を目的とした街路樹は明治以降に概念や手法が西洋から導入され、国家の近代化を可視化する都市装置という役割を担っていた(工藤ら 2008). 庭園樹は飛鳥時代以前から植栽がなされていたと考えられている(西 2005). 一方、公園樹は美観の形成から公害対策用、今日では都市の緑として取り扱われる(内田・久保田 2004). 街路樹や公園樹といった都市における緑地は自然的環境と都市的環境のストレス効果を軽減することが研究されており(Ulrich 1981), 緑陰を提供することで快適な環境を提供している(多田 藤井 2006, 下村ら 1989). 地球温暖化防止が求められる中で都市緑地における二酸化炭素固定(市村ら 1990, 寺田ら 2009)による CO₂ 削減効果も期待されている. 都市域における緑地は生物の生息地となり生態的ネットワークとしての生態的役割も期待されている(一之瀬 2006, 鶴川・加藤 2006). 我が国では街路樹や公園樹は人々に最も身近な自然として古くから利用され多様な役割を果たしてきた. 全国の街路樹の本数は 1987 年から 2002 年の 15 年間で高木 1.8 倍, 中低木 2.6 倍と大きく増加しており(久保 2005), 東京都の公園樹についても 1977 年以前から 2000 年の 23 年間で 8.96 倍となっている(内田・久保田 2004)ことから、街路樹と公園樹の需要が高まっていることがわかる.

I-1-2. 街路樹・公園樹としてのサクラ

サクラ (*Cerasus* spp) は古くから日本人に親しまれ、園樹としては奈良時代に平城宮東院庭園に植栽されたと考えられ(西 2005), 古今和歌集に詠まれる詩より平城京の街路樹として植栽されたことがうかがえる(渡辺 2000). 今日においてもサクラの人気は高く、街路樹として植栽されているサクラの本数は 1987 年の 26 万本(全国 2 位)から 2002 年の 52 万本(全国 2 位)と 15 年間で植栽本数を 2 倍に増加し、1 位のイチョウ(1987 年 48.6 万本から 2002 年 61.9 万本)に迫る勢いである(久保 2005). 明治 40 年以前には住民の自主的な街路樹の整備が行われており、サクラは住民の自費で多く植栽されている(工藤ら 2008). 行政の施策により街路樹が植栽されるようになった明治 40 年以降に植栽される樹種が変化し、イチョウが多く植栽されたが、行政によって植栽されたイチョウへの苦情は多くみられ、明治 40 年以前から植栽されてきたサクラへの苦情は見られない(工藤ら 2008). 公園におけるサクラの植栽としては、1977 年以前には公害に弱いソメイヨシノの植栽が避けられたが、1990 年には人々が季節の変化を身近に楽しめる樹種への樹種選定が行われ、2000 年での公園樹の高木におけるソメイヨシノの割合は 30%となっている(内田・久保田 2004). 大規模な公

園ではサクラがシンボルツリーとして植栽され(内田・久保田 2004), サクラの名所となっている公園は, 城跡地にできた公園など, 江戸時代からサクラの名所として親しまれた場所が多い(鈴木 1993). 日本さくらの会では1964年の設立以来288万本のサクラを植栽し, 平成10年からはサクラ100万本の植栽・愛護運動の活動を行っている(財団法人日本サクラの会). 以上のように, サクラは今も昔も日本人に好まれ, 現在も数多く植栽されている.

サクラは文化的な価値も持つ. 国の天然記念物や特別天然記念物に指定されているサクラは三春滝桜など30項目, 史跡名勝天然記念物に指定されている桜並木などは名勝檜内川堤(サクラ)など9項目ある(文部科学省). その文化的価値を利用して, 静岡県河津市では地域原産の河津桜を地元の住民が植栽し, 花見の名所を作ることで観光を盛んにした. 「河津桜まつり」は平成3年の第一回には3000人程度の来客であったが, 地域の積極的な取り組みによって平成11年には100万人が来場し, 伊豆半島全体の観光産業の柱となる一大イベントとなった(吉田 2009). 上野恩賜公園での花見祭りは最も有名な花見祭りの1つであり, 祭り開催期間の3月下旬から4月上旬には1日約30万人の花見客で賑わう(全国お花見900景). このようにサクラは観光資源としての価値も持つ.

I-1-3. 街路樹・公園樹の問題

街路樹や公園樹は人々に豊かな生活を提供する一方で管理上の問題も多い. 特に街路樹では樹木の枝が電線に掛かることや落ち葉がたまり排水溝を詰まらせること, 街灯の明かりを遮ること, 根の成長に伴って車道や歩道が隆起することなどが挙げられる. そして, 街路樹・公園樹ともに大きな問題として樹木の倒木があり, 巨大な樹木の倒木は非常に危険である. 倒木を引き起こす原因として腐朽病害があり. 腐朽病害による倒木は管理上の責任であるという裁判が起きるほどの問題となっている(細野 2006).

I-2. 腐朽病害

I-2-1. 腐朽病害

腐朽病害は生立木の木部で腐朽分解が起こる現象で, 生立木腐朽, あるいは材質腐朽病害などとも呼ばれる(阿部 1999). 木部の腐朽型は白色腐朽, 褐色腐朽, 軟腐朽に大別される. 白色腐朽では木材中のセルロース, ヘミセルロースとリグニンの分解が同時に進む現象で, 腐朽材が白くなるのが特徴である. 褐色腐朽はセミロースとヘミセルロースが選択的に分解されてリグニンがほとんど分解されずに残る現象である. 軟腐朽では褐色腐朽と同様に木材中のセミロースとヘミセルロースが主に分解され, リグニンが分解されない. 軟腐朽は木材の表層部が軟化するのが特徴で白色腐朽菌や褐色腐朽菌が生育できない多湿な環境下で発生することが多い(Rajderkar 1965, Boddy and Rayner 1983, 阿部 1999).

樹木の腐朽病害は発生する部位によって, 根株腐朽, 樹幹腐朽, 枝腐朽に大別されるほか, 木部の心材部と辺材部のどちらを腐朽するかにより心材腐朽と辺材腐朽に分けられる

(阿部 1999). 腐朽による樹木内部の空洞化は樹木の強度を著しく低下させ倒木を引き起こす (Mattheck and Breloer 1994).

I-2-2. 街路樹・公園樹の腐朽病害

街路樹や庭園樹は植栽された環境により、光条件や大気汚染(Takagi and Gyokusen 2004), 土壌条件(Makarova 2003), 剪定(石井ら 2004), 舗装の影響(西谷ら 1998)により樹勢の低下が起こる. 外傷や渇水ストレスを受けている樹木は樹木内の水分条件が変化し腐朽病害を引き起こしやすいことが知られている(Boddy and Rayner 1983). 大気汚染が腐朽病害の増加を引き起こすこと(James et al. 1980), 剪定の傷が腐朽病害の侵入口となる(清水ら 2008) ことなどからも, 都市の樹木は腐朽病害が発生しやすいと考えられる.

I-2-3. 腐朽病害の診断

一般に腐朽病害は外見から被害の有無や被害程度を診断することが難しく, 子実体(キノコ)が発生して異常に気付くことが多い(阿部 1999). 子実体の視認により腐朽菌相を調べる場合は通常複数年の調査が必須である(阿部 1999). 街路樹において子実体発生を複数年調査とした報告として名勝檜内川堤サクラのベッコウタケの年次変化に関する研究(渡辺・黒坂 2006)や市民団体による毎年の樹勢調査に関する報告(名勝小金井桜を守る会)がある. 渡辺 (2006)は, 名勝檜内川堤サクラでのベッコウタケ子実体発生を複数年調査し累積発生率を求め, 2005 年単年では 12.7%であった並木の子実体発生率が累積発生率では 21.5%に及ぶと報告している. 一方, 管理を行う行政の調査は単年の調査が多く(福岡ら 2007, 宇都宮土木事務所 2004, 角館町教育委員会 2000), 十分な知見が得られているとはいえない.

子実体発生有無以外による腐朽病害の診断として, 音響装置を用いた腐朽病害の診断方法(岡山 2009, 岡澤ら 2009)やガンマ線による非破壊腐朽検査装置を用いた診断(富田・山本 2007)の試みがなされている. これらは樹木を傷つけることなく樹木内部の空洞(腐朽率)を調べることが可能であるため保存を目的とした樹木の診断に有効である. その他の子実体発生有無以外での腐朽病害の診断の試みとしては成長錐を用いた根株腐朽診断法の検討(清水ら 2009)がなされている. いずれも腐朽病害により腐朽した空洞や腐朽材の観測であり, 腐朽病害が充分進行しているものに有効な診断方法であるが, 腐朽病害の感染初期を診断することはできない.

遺伝子解析の技術を用いて木材から腐朽菌の DNA を抽出し菌を同定する研究(Jellison and Jasalavich 2000, 杉山ら 2003)があり, 腐朽菌が感染しているが空洞化まで腐朽が進行していない腐朽病害の初期における診断への応用が期待できる(Guglielmo et al. 2007). 腐朽病害は感染から被害までに顕著に時間がかかるので感染経路の特定や被害の再現がむずかしい(阿部 1999). そのために感染防除対策のために重要な知見となる, 腐朽菌の感染様式についてはほとんど解明されていない.

I-2-4. 腐朽病害の感染様式

腐朽病害の感染様式は土壌中で樹木の傷ついた材が孢子や菌糸束、厚壁孢子と接触することによるもの(Barrett and Greig 1985)や、感染した切株の根系の接触によるもの(Suyama and Abe 2009)、枯れた枝に孢子が接触し発芽と成長して枝に侵入するもの(Paul et al. 1987)などが挙げられる(Schwarze et al, 1999)(図-1)。

孢子による感染では、感染源となった腐朽病害罹病木の腐朽菌と新たに感染した罹病木の腐朽菌とは異なるジェネットであるが、菌糸や厚壁孢子による感染の場合は感染源となった腐朽菌と新たな罹病木の腐朽菌のジェネットは同一、つまりクローンである(衣川 1990)。異なるジェネットに属する菌同士が接すると拮抗反応を示す。この拮抗反応を用いたクローン判別方法に対峙培養がある(Worrall 1997)。対峙培養によるクローン判別は菌類の分布パターンの解明に広く用いられる(Thomsem and Koch 1999, Dahlberg and Stenlid 1990)。しかし、対峙培養による判別が明瞭でない場合もあり(Hansen et al. 1993)、近年ではクローン判別に DNA 解析も用いられている(Guollamin et al. 1996, 久林・服部 2002)。

孢子による感染能力の研究として、孢子の拡散能力(Fukiharu and Kato 1997)や孢子の分散密度とその遺伝的な地域的パターンについての研究(James and Vilgalys 2001)があるものの、感染源としての孢子がどこに由来するものかといった詳細な研究はほとんどない(松下 2010)。

分子生物学的手法の 1 つに、個体での遺伝的分化や他の個体との遺伝的近縁さを調べるマイクロサテライト(SSR)マーカーを用いた遺伝的構造解析手法がある(Queller et al. 1993)。マイクロサテライト領域は 1 から 6 塩基長の非常に短い配列の繰り返しから成り、変異の起こりやすい領域であるために集団や個体による差が生じやすい。そのことを利用しマイクロサテライト領域の対立遺伝子の構造を解析することで親族関係を解明することができる。SSR マーカーは菌類の分野でも開発され(Kanchanaprayudh et al. 2002, Steimel et al. 2004)、草本植物の病気(Mark et al. 1998)や樹木の病原伝播の様式(高橋 2009)の研究に応用されている。この手法を用いることで、孢子による感染でも感染源を突き止めることができるものと期待される。

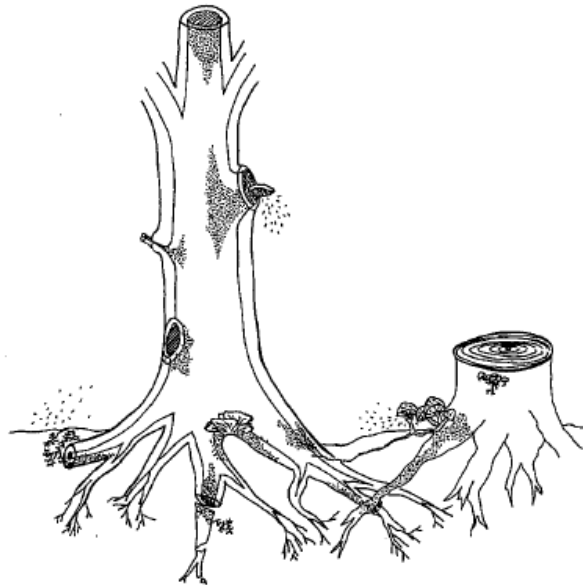


図-1. 腐朽病害の伝播様式模式図

(Schwarze 1999 より引用)

I-3. サクラの腐朽病害

I-3-1. サクラの病気

昔から「サクラ折る馬鹿」という言葉があり、これはサクラの木の枝を折ることでサクラの樹勢が低下することや、その折れた枝を侵入口に腐朽菌が感染し樹勢を弱めることを意味している(阿部 2002, 小林 2007, 内田ら 2008). 日光街道におけるサクラ街路樹の67.4%で腐朽病害が見られ(清水 2009), サクラの病気の発生率の高さが伺える. 街路樹のサクラ倒木被害は多く報告されている(竹嶌 1999, 浅川 1999). サクラの病気は数多く知られ、かわらたけ病やてんぐ巣病, ならたけ(ならたけもどき)病, ベっこうたけ病, こふきたけ病などがある(日本植物病理学会 2000). かわらたけ病はサクラの枝がカワラタケにより木材腐朽される腐朽病害で、枯れた枝や折れた枝を侵入口にカワラタケの胞子が接触し発芽することで感染を広げている. 街路樹において、日光街道のサクラの34.2%がかわらたけ病に罹病しており、剪定枝での発生が77.8%を占めており感染には剪定の傷が強く影響している(清水 2009). サクラてんぐ巣病はサクラの枝の一部に隆起を生じさせ枝梢がほうき状に叢生する病気で、病原の *Taphrina wiesneri* 菌の胞子が近くの葉に感染を拡大していることがDNA解析により明らかになり(松下 2010), てんぐ巣病の発生した枝の切除が有効であることが示された(財団法人日本緑化センター 2001, 山本ら 2007). サクラならたけ(もどき)病は、ナラタケモドキが根株腐朽することで、樹勢を衰えさせ、全体的な枯死を引き起こす(財団法人日本緑化センター 2001). ならたけ病の感染は分子生物学的手法を用いて研究されており、種により感染が胞子, 菌糸束, 感染した根の接触と感染様式が異なることが明らかになり、防除法として感染源の除去, 防除溝の設置, 薬剤の使用, 地際部の露出の検討がなされている(太田 2006).

I-3-2. サクラのべっこうたけ病・こふきたけ病

べっこうたけ病は根株腐朽菌であるベッコウタケ (*Perenniporia fraxinea*) によって引き起こされる根株の木材腐朽病害であり、こふきたけ病はコフキサルノコシカケ (*Ganoderma applanatum*, 以下: コフキタケ) によって引き起こされる樹幹の木材腐朽病害である。ベッコウタケやコフキタケによる木材腐朽はサクラ樹木の心材部を腐朽し空洞化させる(岡山 2009)。樹幹や地際の空洞化が起こると樹木の物理的な強度を低下させ倒木を起こす(Mattheck and Breloer 1994)。ベッコウタケやコフキタケの子実体が発生した樹木は腐朽が進行しており、幹折れによる事故の注意が必要となる(財団法人日本緑化センター 2001)。実際に日光街道のサクラ並木でサクラが倒木し怪我人を出す事故が発生している(日本経済新聞 2003)。2009年7月に晴海ふ頭公園でもバーベキュー広場側にサクラが地際部から倒木し、根株の断裂部分には白い菌糸膜があったことから、腐朽病害による倒木が考えられる(施設破損等報告書 2009)。名勝小金井桜においても、ベッコウタケの発生していたサクラが事故により倒木し、倒木後の切株にベッコウタケの子実体が確認された(「名勝小金井桜」樹勢調査 2010)。街路樹のサクラにおいてベッコウタケとコフキタケは地際部において最も多く観察される腐朽菌である(清水 2008, 関山ら 2010)。先にも述べたが、名勝檜内川堤サクラに発生したベッコウタケ子実体の並木全体の累積発生率では 21.5%に及ぶと報告しており(渡辺・黒坂 2006)、ベッコウタケとコフキタケはサクラ植栽地における大きな問題となっている。

ベッコウタケおよびコフキタケなどの木材腐朽菌の感染様式は、感染源が孢子もしくは菌糸束であり、伝搬が風や雨、動物や人間により行われ、侵入口が地際付近の傷や土壌中の傷ついた根や枯死した根である考えられている(図-1. Schwarze et al. 1999)。一般に腐朽病害の侵入を防ぐ管理として、芝刈り機などによる地際部への傷を避けることや、剪定したのちに傷口に殺菌剤を塗布することが求められる(財団法人日本緑化センター 2001)。清水(2009)は、地際部の傷とベッコウタケの発生頻度には関係がみられず、歩道が舗装され並木の車道側に根が伸長できる土壌がない場所での発生が多いことから、サクラ並木においてベッコウタケが地際部の傷ではなく、舗装などに伴う土壌中の根の傷が感染の侵入口となっていると示唆している。

隣接した樹木で見られたベッコウタケの多くは対峙培養異を用いたジェネット判別では異なるジェネットであったことから、ベッコウタケが孢子によって感染拡大していると示唆されている(鈴江・渡辺 2006, 清水 2009)。近年、ベッコウタケの SSR マーカーが開発された(未発表)。SSR マーカーを用いた遺伝子解析は個体や家系などを特定できるため SSR マーカーを用いて遺伝子構造を解析することで、ベッコウタケの感染様式の解明が期待できる。

Ⅱ. 目的

サクラ植栽地での倒木を引き起こす危険がある腐朽菌であるベッコウタケとコフキタケの子実体発生消長を明らかにし、サクラ植栽地における腐朽病害の実態把握を目的とした。

ベッコウタケについてマイクロサテライトマーカーを用いた遺伝的構造解析を行い、その解析結果をもとに、サクラ植栽地におけるベッコウタケの遺伝的特徴を明らかにし、感染様式を解明することを目的とした。



図-2. サクラの地際部に発生したベッコウタケ子実体

Ⅲ. 材料・調査地

Ⅲ-1. 材料

サクラ植栽樹のサクラ生立木および切株に発生したベッコウタケとコフキタケの子実体を材料とした。これらの腐朽菌が野外では外見が様々であるため目視のみでは同定を誤ることがある。コフキタケがシイサルノコシカケと混合されることがある。これらの腐朽菌を扱う際は慎重に同定を行う必要がある。近年、分子生物学的手法である遺伝子解析を用いた菌類の同定が盛んに行われるようになった(Gardes and Bruns 1993)。今回の研究では、野外での生態的形態観察、培養した菌糸の顕微鏡観察、遺伝子解析により同定を行った。

Ⅲ-1-1. ベッコウタケ・コフキタケ

ベッコウタケおよびコフキタケの特徴を以下に示す。野外における様子と、これらの菌による樹木内部の腐朽の様子を図に示す。

ベッコウタケ

サルノコシカケ科ウスキアナタケ属 *Perenniporia fraxinea* (Bull.) Ryvarden

木材腐朽菌。硬質担子菌類。根株心材腐朽菌。白色腐朽菌。通年、広葉樹の枯れ木、または生木地裁付近に発生する。一年生、時に多年生。エンジュ、サクラなどの街路樹に発生、木を枯らしたり風倒の原因になることがある。子実体の発生した木は倒れる可能性があり、危険である(幼菌の会 2001)。北海道、本州、九州に分布(伊藤 1955)。

コフキタケ

マンネンタケ科マンネンタケ属 *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat

木材腐朽菌。樹幹心材腐朽。硬質担子菌類。白色腐朽。根株と幹を腐朽する(阿部 1998)。木を枯らしたり風倒の原因になることがある(幼菌の会 2001) 多年生。日本では全土に分布。まれに針葉樹にも発生(加藤編 1978)。図のように子実体表面には、茶色の孢子がある。



図-3. 腐朽菌の子実体と樹木内部の腐朽

左から：ベッコウタケ子実体、ベッコウタケによる腐朽、コフキタケ子実体、コフキタケによる腐朽
(樹木内の腐朽は、清水 2009 より引用)

III-1-2. 形態観察による材料の同定

採取した子実体の一部を PDA(potato dextrose agar)平板培地に分離培養をおこなった。分離後は室温で培養を行った。培養した菌糸および形成された厚壁孢子を酸性フクシンで染色し顕微鏡によりその形態を観察した。

ベッコウタケの顕微鏡的性質

2 菌糸型で、原菌糸にはクランプがある。骨格菌糸は幅 $5\sim 7\mu\text{m}$ の太い菌糸のほかに幅 $2\sim 2.5\mu\text{m}$ の細くて、分枝の多い結合菌糸状のものも含まれる。骨格菌糸はデキストリノイド。孢子はデキストリノイド、卵形、 $5\sim 7, 4.5\sim 5.5\mu\text{m}$ (城川 1996)。図鑑に掲載された図を以下に示す(図-4.)。

顕微鏡によりベッコウタケの結合菌糸状の太さが約 $2\mu\text{m}$ の細くて分枝の多い菌糸と骨格菌糸、卵形で $5\times 7\mu\text{m}$ の厚膜孢子が観察された。

コフキタケの顕微鏡的性質

3 菌糸型。原菌糸にはクランプがある。分枝する枝が短く、太い厚壁菌糸が緊密に結合している。傘肉の骨格菌糸は幅ほぼ $5\mu\text{m}$ 、分枝する。孢子は二重壁のマンネンタケ型、 $7.5\sim 9\times 5\sim 6\mu\text{m}$ (城川 1996)。図鑑に掲載された図を以下に示す(図-4.)。

顕微鏡によりコフキタケについても分枝する枝が短く太い菌糸(太さ約 $2\mu\text{m}$)、また、クランプが観察された。

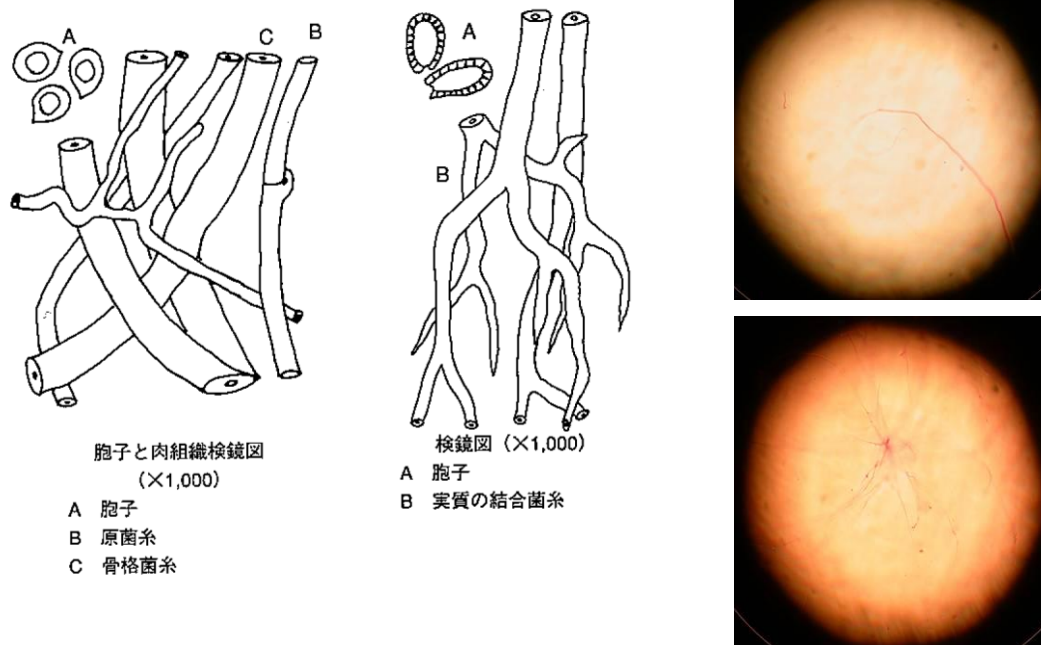


図-4. 腐朽菌の顕微鏡による形態観察の模式図と観察図

左から：ベッコウタケイラスト，コフキタケイラスト，右上部：ベッコウタケ，右下部：コフキタケ
(イラストは，城川 1996 より引用)

III-1-3. 遺伝子解析による材料の同定の検討

菌類の同定は形態観察で行うのが一般的であるが、近年、DNA 解析を用いた同定が多く報告されるようになった(Gardes and Bruns 1993). 形態観察で同定を行う場合は子実体が充分成長している必要があるが、遺伝子解析による同定は子実体が幼菌であっても解析可能であり、菌の分離と培養を行う必要もない。そこで、対象となるベッコウタケおよびコフキタケの遺伝子解析による同定を検討した。

方法

ベッコウタケおよびコフキタケの培養菌糸から DNeasy Plant Mini Kit を用いて DNA 抽出と精製を行った。DNA 抽出物について根系の菌類に用いられるプライマーペア LR1 と FLR2 (van Tuinen et al. 1998) を用いて PCR を行った。PCR は反応液の組成をテンプレート DNA 5.0 μ l と反応液(PCR Mix 25 μ l, 20 μ M forward primer 1.0 μ l, 20 μ M reverse primer 1.0 μ l, ultra pure water 18 μ l)とし、以下の反応条件でサーマルサイクラーを用いて PCR を行った。95 $^{\circ}$ C/10 分 \cdot 1 サイクル, [93 $^{\circ}$ C/1 分 + 58 $^{\circ}$ C/1 分 \cdot + 72 $^{\circ}$ C/1 分] \cdot 30 サイクル, 72 $^{\circ}$ C/10 分 \cdot 1 サイクルの条件で行った PCR 産物をアガロースゲル電気泳動で DNA の増幅を確認したのちシーケンサー(Applied Biosystems 3130/3131xl Genetic Analyzer)を用いて塩基配列を解読し、National Center for Biotechnology Information(NCBI)のデータベースと相同性検索を行った。

また、担子菌を選択的に増幅するプライマーペア ITS3 と ITS4-B (Gardes and Bruns 1993) を用いて、同様に塩基配列の解読を行った。DNA の抽出の手順および PCR 反応液の組成は LR1-FLR2 と同様であり、PCR 反応条件を 95 $^{\circ}$ C/10 分 \cdot 1 サイクル, [94 $^{\circ}$ C/30 秒 + 55 $^{\circ}$ C/30 秒 \cdot + 72 $^{\circ}$ C/30 秒] \cdot 40 サイクル, 72 $^{\circ}$ C/7 分 \cdot 1 サイクルとした。同様にシーケンス、NCBI のデータベースと相同性検索を行った。

ベッコウタケ

ベッコウタケはどちらのプライマーペアを用いた場合でも、解読した塩基配列が NCBI のデータベースと一致していた。しかし、子実体から直接 DNA を抽出しプライマーペア (LR1 と FLR2)を用いて解析を行った際に真菌である *Cryptococcus* の DNA を増幅 (コンタミ) する試料もあった。同 DNA 抽出物について、担子菌特異的なプライマーペア(ITS3 と ITS4-B)を使うことでコンタミの影響を取り除き、ベッコウタケの DNA が増幅された。このことから、ベッコウタケ子実体を野外から採取し、子実体の形態観察や分離培養が難しい場合はプライマーペア(ITS3 と ITS4-B)を用いることで同定できる。

コフキタケ

コフキタケはどちらのプライマーペアを用いた場合でもマンネンタケ属までのデータと一致するものコフキタケの種との一致はなく、現段階では NCBI との相同性検索で同定を行えなかった。得られた複数の試料の塩基配列を ClustalX により相同性をみると 98%で塩基配列が一致した。これらのことから、コフキタケを遺伝子解析で同定する場合は自身で得たシーケンスのデータとの相同性を比較することで可能になると考えられる。

Ⅲ-2. 調査地・調査日

以下の6サクラ植栽地を本研究の調査地とした(図-5,表-1)。これらの調査地はいずれも腐朽病害の発生が報告されており、それぞれに植栽規模や立地条件、管理体制などに特徴を持つことから調査地に選定した。以下に各調査地の特徴を記述する。

Ⅲ-2-1. 日光街道

栃木県に位置する日光街道桜並木(以下：日光街道)は日光街道に沿って植えられた総延長16kmのヤマザクラ(*Cerasus serrulata* (Lindl.) G. Donex Loudon)並木で、植栽後50年を経過しており、倒木被害が報告されている(栃木県宇都宮土木事務所 2004)。その中で、国道119号線沿いの宇都宮市上戸祭町から日光市との市境までの約13.8kmの区間(両側計27.6km)のサクラを対象とした。調査は2009年8月に対象となる全個体を一通り行い、2010年8月に部分的に行った。

Ⅲ-2-2. 小金井並木

国名勝指定小金井桜(以下：小金井並木)は玉川上水の中流域に位置し、東京都小平市旧小川水衛所から武蔵野市境橋までの両岸約6kmにヤマザクラを中心に植栽された並木で、1737年頃から植栽されたと言われている。この中で、小平市喜平橋から武蔵野市陸橋までの約3.7kmの区間(両岸計7.4km)のサクラを対象とした。調査は2009年8月に対象となる全個体を一通り行った。

Ⅲ-2-3. 小金井公園

東京都立小金井公園(以下：小金井公園)は玉川上水沿いに位置した面積79ヘクタールの公園で、園内にはヤマザクラ、サトザクラ(*Cerasus serrulata*)、ソメイヨシノ(*Cerasus × yedoensis* 'Somei-yoshino')などのサクラが約1700本植えられている。園内のサクラは昭和20年代末期より順次植栽された。その中でサクラが集中して植栽されている「桜の園」と建物園前の13ヘクタールの区間のサクラを対象とした。調査は2009年と2010年8月に対象となる全個体を一通り行った。

Ⅲ-2-4. 角館

国名勝指定檜木内川堤桜(以下：角館)は秋田県角館町の西を流れる檜木内川左岸堤防上の道路の両側にあるソメイヨシノの並木で、延長約1950mである。昭和9年に植栽された。檜木内川河川復興事業が完成してから植えられた若木も含めたサクラを対象とした。調査は2009年12月に部分的に行った。子実体の観察および採取はベッコウタケについてのみ行った。

Ⅲ-2-5. 富士森公園

東京都八王子市立富士森公園は東京都八王子に位置する 11.6 ヘクタールの公園で、大正から昭和の初めにかけて植栽等の整備がなされており、現在は桜の名所となっている。主にソメイヨシノが植栽されており、中には樹齢 120 年のサクラもある。腐朽病害の対策として 2008 年にサクラ約 150 本の伐採と、土壌の pH、水分の改質を行った。公園内すべてのサクラを対象とした。調査は 2009 年 8 月に対象となる全個体を一通り行った。

Ⅲ-2-6. いずみ野

神奈川県横浜市いずみ野駅前通サクラ並木で、昭和 51 年から整備された。総延長 800m のソメイヨシノの並木で、「桜のトンネル」として有名である。腐朽病害が多く報告され、2008 年から植え替え作業が進められている。調査は 2009 年と 2010 年 8 月に対象となる全個体を一通り行った。

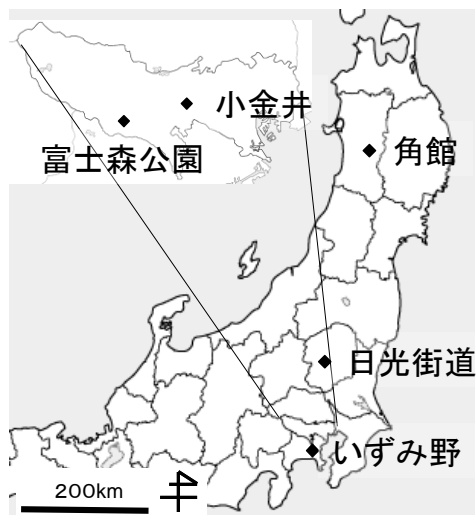


図-5. 調査地

表-1. 調査地の特徴

調査地	調査区間	主な樹種	年間平均日 気温 (°C)	夏季平均日 気温 (°C)	年間合計降水量
角館	2km の区間	ソメイヨシノ	10.9	23.5	2205.5
日光街道	14km の区間	ヤマザクラ	14.6	24.9	1394.0
小金井公園	一部 (24ha)	ソメイヨシノ	15.6	26.1	1566.0
小金井並木	4km の区間	ヤマザクラ	15.6	26.1	1566.0
富士森公園	全域 (12ha)	ソメイヨシノ	14.9	25.6	1414.0
いずみ野	800m の区間	ソメイヨシノ	16.3	26.1	1894.0

IV. サクラ植栽地における木材腐朽菌の発消長

腐朽病害は倒木を引き起こす恐れがあるため、街路樹や公園樹の倒木による事故を防ぐためには腐朽病害を把握することが重要である。根株腐朽菌および樹幹腐朽菌の子実体が発生している樹木は樹木内部が空洞化している可能性が高く、倒木の危険があるため伐採が必要であるとされる。サクラ植栽地におけるサクラ生立木へのベッコウタケおよびコフキタケの子実体の発生の有無を調査した。また、切株も腐朽病害の感染源となることから、切株についても調査し、子実体の発生の有無とその数を求めた。

IV-1. 各植栽地の子実体発生率と危険木

各サクラ植栽地で木材腐朽菌であるベッコウタケとコフキタケの生立木での発生数と率を算出することで、サクラ植栽地の危険木の算出を行った。

IV-1-1. 材料・方法

2009 年度における各サクラ植栽地のベッコウタケとコフキタケの子実体の発生したサクラの本数とその割合を調べ(ただし角館はベッコウタケのみ)、立地の異なる植栽地間で腐朽病害の発生率に違いがあるかを調べた。対象となる腐朽菌は雨季のあとから7月から9月に掛けて子実体を形成することが知られている(千田・渡辺 2001)。角館を除く5植栽地で2009年の夏季に調査を行った。角館は東京農工大学の渡辺直明氏が調査した2009年の夏季と2009年の冬季の二度に渡って行った。

IV-1-2. 結果

表-2に、各植栽地のサクラの調査対象本数、生立木本数、ベッコウタケおよびコフキタケ子実体が発生していた生立木本数(生立木発生数)とその割合(率)、子実体が発生していた切株の本数をまとめた。ベッコウタケもしくはコフキタケが発生していた生立木の本数を腐朽菌発生木とその割合を算出した。

表-2. 2009年における各調査地の子実体発生本数と発生

調査地	調査数 本	生立木 本	ベッコウタケ		コフキタケ		腐朽菌 発生木 数(率)			
			生立木発生数(率)		生立木発生数(率)					
			本	(%)	本	(%)				
角館	409	409	40	(9.8)	0	-	-	40	(9.8)	
日光街道	1112	854	62	(7.3)	18	7	(0.8)	12	68	(8.0)
小金井公園	592	584	49	(8.4)	3	18	(3.1)	1	66	(11.3)
小金井並木	819	651	13	(2.0)	3	19	(2.9)	3	30	(3.7)
富士森公園	489	373	19	(5.1)	7	1	(0.3)	0	20	(5.4)
いずみ野	155	150	18	(12.0)	4	12	(8.0)	0	28	(18.7)

サクラ生立木についてベッコウタケの発生率が最も大きいものはいずみ野(12.0%)であった。コフキタケの発生率についても、いずみ野(8%)が最も高く、ベッコウタケとコフキタケの発生率が他の調査地よりも高かった。一方、ベッコウタケの発生率が最も低かった調査地は小金井並木(2.0%)であり、コフキタケの発生率の最も低かった調査地は富士森公園(0.3%)であった。

ベッコウタケとコフキタケとの発生数(発生本率)を小金井並木を除いてどの調査地においてもベッコウタケの発生率が高かった(ANOVA, $p=0.07$)。サクラ植栽地でこの2種の腐朽菌が同じサクラ樹木で観察されることは稀で、日光街道と小金井公園で1本、小金井並木といずみ野で2本のみであった。

角館を除く5調査地において、切株からの腐朽菌の子実体発生が確認された。角館の冬季の調査では積雪が多く切株の調査は行えなかった。

IV-1-3. 考察

ベッコウタケとコフキタケの子実体発生率を比較するとベッコウタケが高い傾向にあり、サクラ植栽地の地際部の腐朽菌としてはベッコウタケが優先しているものと考えられる。ベッコウタケとコフキタケについて、温度・pH・水分の条件を変え拮抗を観察した培養実験がある(渡辺・大久保 2005)。35°Cの高温条件下でコフキタケが優勢であるが、30°Cで互いに劣勢、10~25°Cでベッコウタケが優勢であることが示されている。菌の生育特性として都市環境におけるpHの低下などの環境要因に対してベッコウタケが優勢であると考えられるが、子実体発生率と年間平均日気温や降水量との関係は得られなかった。今後、より詳細な環境要因を調べることで気候の影響の解明が期待される。

富士森公園は2008に腐朽病害対策として腐朽病害に対するサクラ150本の伐採や伐根、土壌改良を行っている。2009年度で生立木として残ったサクラにもベッコウタケの子実体が観察されたことから、ベッコウタケの子実体が発生しなくとも樹木内部に腐朽病害を持ち、同じ樹木個体においても年によって子実体の発生の有無が変化している可能性が示唆された。

IV-2. 腐朽病害の経時変化からみた新規発生率と累積発生率,地域による発生率の差

IV-1 の富士森公園の結果から, 腐朽菌の子実体発生は同じ樹木個体において毎年発生するのではなく, 年によって異なる個体に発生している可能性が示唆された. そこで, 経年的な子実体発生消長を明らかにすることで, より詳細な腐朽病害の把握を行うことにした.

IV-2-1. 材料・方法

子実体発生消長の年変化を追うためには各年の子実体発生木が特定されているデータが必要である. 当研究室の卒業生である清水淳子氏より, 日光街道の 2003 (樹木の状態のデータなし), 2004, 2005, 2006(ベッコウタケのみ), 2007 年, 小金井並木の 2005, 2006, 2007 年の調査データを入手し, 2009 年の調査結果と比較することで子実体発生消長を調べた.

IV-1 と同様の項目として, 生立木本数, ベッコウタケおよびコフキタケ子実体が発生していた生立木本数(生立木発生数)とその割合(率), 子実体が発生していた切株の本数を算出した. さらに, 調査年とそれ以前での子実体発生木を比較することで各年における子実体の新規発生生立木数(新規発生本数)とその年の子実体発生生立木の中で新規発生が占める割合を算出した.

IV-2-2. 結果

この 2 つの植栽地ではサクラの伐採が行われているため年によって生立木数が変化していた(一部枯死を含む). それぞれの調査地での各年における生立木数の変化を図-6 に示した. ただし, 調査地内には植栽がなされたばかりの若木が存在したが, 若木が植栽後に街路樹として定着せずに枯れる可能性があること, 若木には菌が腐朽する部位の心材部が形成されていないため今回は対象外とした.

日光街道と小金井並木におけるベッコウタケとコフキタケの子実体が発生した生立木数と新規発生本数, 子実体の発生した生立木率を示す(図-7).

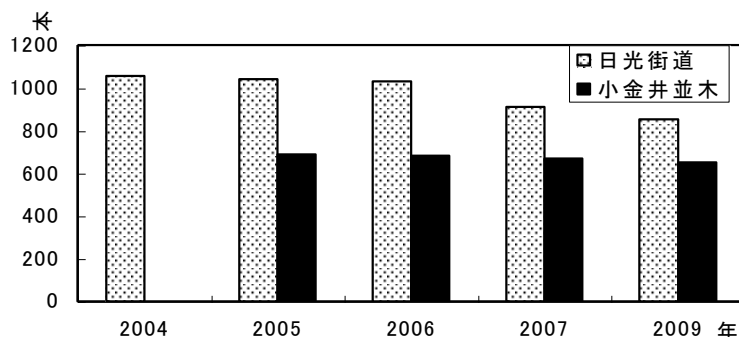
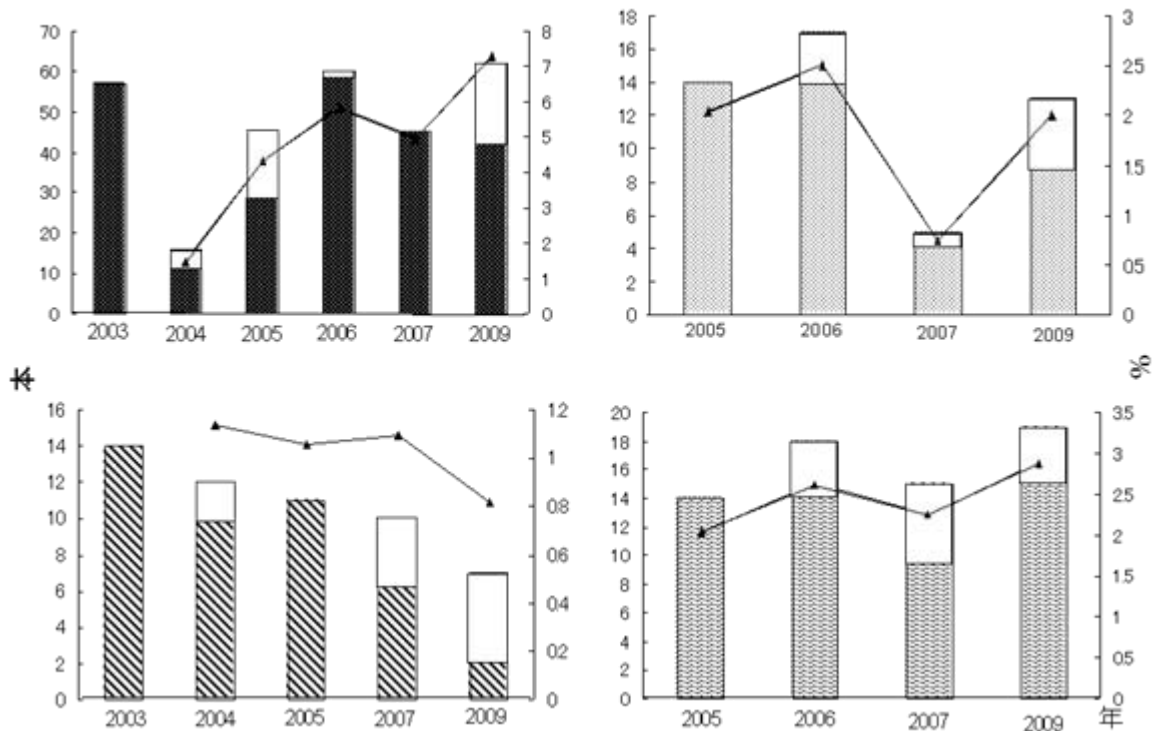


図-6. 生立木の年次変動



棒グラフ：子実体発生本数 白抜き棒グラフ：新規子実体発生本数 折線：発生率

図-7. 日光街道と小金井並木における腐朽菌の子実体発生消長

(左上：日光街道ベッコウタケ，左下：日光街道コフキタケ，

右上：小金井並木ベッコウタケ，右下：小金井並木ベッコウタケ)

日光街道ベッコウタケ

日光街道においてベッコウタケの生立木発生率の各年の平均は 4.7%であった (図-7.)。また、新規発生本数は年によってバラつきが大きく、平均すると年に約 11 本であり、生立木への子実体発生木の 26.2%を占める割合であった。切株での子実体発生数も年によってバラつきがあり平均すると 7.6 本であった。

2009 年度の時点で、それまでに子実体の発生が 1 度でも確認された生立木子実体発生累積本数を算出した。子実体が 1 度でも観察された生立木は子実体が消失していても菌株が内在し、樹木内部を腐朽し続けると考えられる。こうした生立木が 2009 年度では 78 本であった。

日光街道コフキタケ

日光街道においてコフキタケが発生していた生立木の割合はベッコウタケと比べ常に低く、生立木発生率の各年の平均が 1.0%であった。新規発生本数の平均は 2.8 本と少なかったものの生立木への子実体発生木の 32.0%を占める割合であった。切株での子実体発生数の平均は 11.7 本とベッコウタケに比べ多かった。2009 年度における生立木への子実体発生累積本数は 13 本であった

日光街道

2009年において、ベッコウタケまたはコフキタケの子実体の発生が1度でも確認された生立木は90本と算出され、その割合は伐採されたものを除いても並木の生立木における10.5%である。IV-1で求めた2009年度の日光街道の腐朽菌発生本数の68本(8.0%)よりも、12本(2.5%)大きい値となった。

小金井並木ベッコウタケ

小金井並木においてベッコウタケ子実体が発生していた生立木発生率の各年の平均は1.7%と日光街道に比べ低かった。新規発生本数の各年の平均は2.7本あり、ベッコウタケによる子実体が発生した生立木の22.9%を占める割合であった。切株での子実体発生数の平均は3.0本で各年の変化は少なかった。2009年度における生立木への子実体発生累積本数は19本であった。

小金井並木コフキタケ

小金井並木においてコフキタケ子実体の生立木率の各年の平均は2.4%であり、日光街道よりも高かった。新規発生本数の平均は4.7本、割合は27.8%であった。切株での子実体発生数の平均は6.8本と切株においても小金井並木のベッコウタケに比べ子実体発生率が高かった。2009年度における生立木への子実体発生累積本数は25本であった。

小金井並木

2009年において、ベッコウタケおよびコフキタケの子実多発生が1度でも確認された生立木は42本と算出され、その割合は伐採されたものを除いても並木の生立木における6.5%であった。およそ15本に1本は腐朽菌の発生が確認されたことになる。IV-1で求めた2009年度の小金井並木の腐朽菌発生本数の30本(3.7%)よりも、12本(2.8%)大きい値となった。

腐朽菌発生木の伐採

腐朽菌が感染し、子実体が発生するほど腐朽が進行した樹木は内部が腐り強度が低下しており危険である。そのため、道路管理上、腐朽菌が発生した樹木の伐採が求められている。今回の対象とした植栽地においても、樹木の伐採が行われていた。腐朽菌の子実体が発生したことのある樹木の伐採本数を子実体発生状況と樹木の状態から算出した。その結果を以下の表にまとめる。ただし、年度は伐採が確認された年であり、伐採された年ではない。

表-3. 腐朽木の年による伐採本数

	2005	2006	2007	2009
日光街道 ベッコウタケ	0	10	7	7
日光街道 コフキタケ	1	-	6	4
小金井並木 ベッコウタケ	0	3	4	1
小金井並木 コフキタケ	0	0	0	0

表-3 から、各年に数本ずつの腐朽菌発生木の伐採が行われていることがわかる。日光街道のベッコウタケが発生していた樹木の伐採が最も多かった。

IV-2-3. 考察

年による新規の子実体発生木を導き出した。子実体が新規発生に発生した樹木の本数は、年によりバラついたが平均をみると、腐朽菌の発生木の2～3割程度であった。新規発生が観察される一方で、生立木における子実体発生率の増加はみられなかった。この理由として、子実体発生木の伐採と翌年以後に子実体発生が見られない樹木固体の存在が考えられた。現段階では伐採による腐朽病害木の除去よりも新規発生本数のほうが大きくなっている。年による子実体の発生率に増加の傾向は見られなかったが、腐朽病害木が伐採されているにも関わらず発生率が低下しないこと、また発生率を保つ要因として新規発生があることを考えると、並木において腐朽病害が想定されて伐採等の処理がされているよりもすでに感染している、または感染が拡大のほうが大きな値を持つと考えられる。

IV-3.ベッコウタケ子実体再発生率と消失率

IV-2の結果より、一度子実体が発生した個体であっても翌年以降に発生しない個体があった。そこで、一度子実体が発生した個体から再度子実体が発生する割合（再発生率）と消失する割合（消失率）を算出し、腐朽病害調査における被害木の見落としの可能性や、複数年の調査の必要性を検討した。さらに、複数年の調査結果から感染拡大を検討した。

IV-3-1. 材料・方法

日光街道の2003、2004、2005、2006、2007、2009年の調査データより、各年のベッコウタケ子実体発生個体を比較し、表にまとめた（付録1.）。表をもとに、子実体発生が確認された翌年以降の再発生率と消失率を算出した。生立木に発生した子実体のみを対象にし、伐採された個体は伐採された時点より計算から除外した。

IV-3-2. 結果

子実体を確認された翌年以降、各年での子実体が再度発生している割合の平均がおよそ6割であり、子実体が消失する割合は4割であった。

IV-3-3. 考察

この結果は単年度の調査では、子実体が発生するほどの腐朽被害木の4割程度を見落としている可能性を示している。さらに3年間調査を行うことで、およそ95%の被害木を把握できることを示す。日光街道において6年分の調査で被害木を見落としている可能性はほぼないと推察されるが、2009年度においても新たに子実体の発生が確認された個体が19本と多くあった（付録1.）。このことから、腐朽病害の感染が拡大していることが示唆された。

V. ベッコウタケの遺伝的構造解析

IVで示したようにサクラ植栽地では多くの腐朽菌，とくにベッコウタケによる腐朽病害が確認された．こうした腐朽菌が一度感染すると処理が非常に困難であるため，感染の防除が求められている．サクラ植栽地に発生したベッコウタケの分離菌株の対峙培養結果から，ほとんどの樹木間で異なるジェネットが感染しており孢子による感染が示唆された(鈴江・渡辺 2006, 清水 2009)．ベッコウタケの感染様式を明らかにすることを目的として，マイクロサテライト(SSR)マーカーを用いてサクラ植栽地内の樹木間と植栽地間のベッコウタケの遺伝的構造を解析した．

V-1. マイクロサテライトマーカーによる多型解析

採取した子実体および保存してあった培養菌糸から CTAB 法により DNA 抽出および精製を行った．抽出精製を行った DNA についてベッコウタケの 5 つの遺伝子座の多型を解析するために SSR マーカーを用いて PCR を行い，対立遺伝子のバンド長から多型を解析した．

V-1-1. 材料・方法

試料として 2009 年に異なる樹木から発生した子実体やその培養菌糸を中心に日光街道 84，小金井公園 39，角館と富士森公園といずみ野 20，小金井公園 17 サンプルの計 200 サンプルを用いた．ただし，いずみ野については 2008 年の試料も含む．さらに日光街道については同じ樹木個体において子実体発生の年度が異なるもの 15 サンプル，発生の位置が異なるもの 6 サンプルも加えて遺伝的構造を解析した．

子実体および培養菌糸は DNA 抽出の前にシリカゲルと共に冷凍庫に入れ低温で乾燥させたものを用いた．DNA の抽出は CTAB 法により行った．CTAB 法は細胞から DNA 抽出と精製を行う手法の 1 つで (Murray and Thompson 1980)，細胞内のたんぱく質や糖といった PCR を阻害する物質を界面活性剤により除去する精製法である．抽出した DNA を 25-50 倍に希釈し，テンプレート DNA とした．

ベッコウタケの SSR マーカー(小松ら 未発表)を用いて，多型解析を行った．SSR マーカーの増幅領域やそこに現れた対立遺伝子の数は以下の表-4 に示す．反応液の組成をテンプレート DNA 0.55 μ l と反応液(2 \times MightyAmp Buffer ver. 2.2. 5 μ l, 20 μ M forward primer(IP2, cold), 20 μ M reverse primer(IP3-tail, cold), 1 μ M IRDye labeled M13F primer (hot, 700/800) 0.05/0.2 μ l, MightyAmp DNA Polymerase(1.25U/ μ l) 0.1 μ l, ultra pure water 1.7/1.55 μ l) 0.5 μ l とし，以下の反応条件でサーマルサイクラーを用いて PCR を行った．95 $^{\circ}$ C/5 分 \cdot 1 サイクル，[94 $^{\circ}$ C/30 秒 + 60 $^{\circ}$ C/30 秒 \cdot + 72 $^{\circ}$ C/30 秒] \cdot 10 サイクル，[94 $^{\circ}$ C/30 秒 + 54 $^{\circ}$ C/30 秒 \cdot + 72 $^{\circ}$ C/30 秒] \cdot 30 サイクル，72 $^{\circ}$ C/10 分 \cdot 1 サイクルの条件で行った．

各増幅産物は PCR 産物 : Loading Dye = 1:2 の割合で混合し，95 $^{\circ}$ C で 5 分間熱変性した．

熱変性した増幅物をラダー(Licor 50~350bp) とともに6%Long Ranger gelsでLI-COR 4300 DNA analyzer により電気泳動し得られた泳動像から目視によりバンドサイズを解析した。得られた多型解析の結果をもとに、それぞれの解析を行った。

表-4. 遺伝子解析に用いた SSR プライマー

Locus	Ta (°C)	Repeat	observed allele size range (bp)	Number of alleles	Ho	He
Pfr02	60	(GT) ₄ (CT) ₄	194-196	2	0.25	0.19
Pfr13	60	(AG) ₅ (TG) ₅	142-146	3	0.67	0.49
Pfr18	60	(TG) ₆	141-151	5	0.62	0.55
Pfr20	60	(TG) ₆ ···(AG) ₄	173-187	5	0.37	0.39
Pfr35	60	(TG) ₆	147-153	4	0.57	0.51

V-2. 植栽地内の遺伝的多様性と任意交配

得られた多型解析の結果をもとに、各植栽地内での対立遺伝子の数や多様度を評価した。さらにヘテロ接合度の観察値 (Ho) と期待値(He), 固定指数を算出し検定した。ヘテロ接合度の期待値はハーディーワインバーク平衡が成り立ったと仮定した時に対立遺伝子の出現頻度から求めたヘテロ接合度である。ヘテロ接合度の期待値と観察値の分散によって固定指数を算出する。

V-2-1. 材料・方法

多型解析の結果をもとに、遺伝子座あたりの遺伝子多様度を GenAlEx (Peakall and Smouse 2006)により算出した。また、対立遺伝子数, allelic richness(Mousadik and Petit 1996), および Wright の F_{IS} (Weir and Cockham 1984)を FSTAT より算出した。

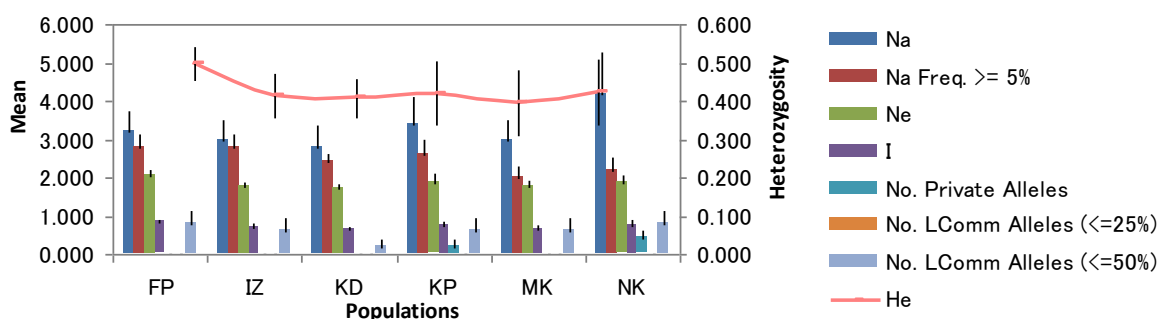
V-2-2. 結果

各集団(植栽地)における遺伝的多様度をそれぞれの遺伝子座の平均をとり、以下の表-5 と 図-8 にまとめた。

さらに植栽地ごとにみた多様性の傾向を図に示した。調査地間で遺伝的多様度に差がないはなかった。地域特有の対立遺伝子が小金井公園の Pfr02 と日光街道の Pfr18 と Pfr35 に存在した。

表-5. 各調査地における遺伝的多様度

Pop	N	Na	Ne	Ho	He	
KD		20	2.8	1.7	0.51	0.41
NK		84	4.2	1.9	0.46	0.42
KP		39	3.4	1.9	0.48	0.42
MK		17	3.0	1.8	0.54	0.40
FP		20	3.2	2.1	0.51	0.50
IZ		20	3.0	1.8	0.48	0.42



Na = No. of Different Alleles Ne = No. of Effective Alleles = $1 / (\sum \pi^2)$

Ho = Observed Heterozygosity = No. of Hets / N He = Expected Heterozygosity = $1 \cdot \sum \pi^2$

図-8. 各調査地における遺伝的多様度の傾向

表よりヘテロ接合度の期待値と観測値に差がある。この差はハーディーワインバーグ平衡からのずれを表しており、有意な差であるかを χ^2 検定 ($p < 0.05$) により検定した(表-6)。

検定の結果よりほとんどの地域とその遺伝子座でハーディーワインバーグ平衡からのずれが生じていた。平衡からのずれは、ヘテロ結合の観測値が期待値よりも大きかったことに起因する。平衡からずれる理由として、集団内での近親交配の卓越や、集団内に複数の集団があること、集団を成立してから平衡に達するまでの世代を経過していないなどが考えられる。ベッコウタケが古くから自然界に分布し、後に植栽されたサクラに感染を広げた場合に平衡に達していることも考えられたが、そのような傾向は得られなかった。

表-6. ハーディーワインバーク平衡からのずれの検定

Pop	Locus	ChiSq	Prob	Signif
FP	Pfr2	7.593	0.006	**
FP	Pfr13	0.900	0.343	ns
FP	Pfr18	3.588	0.732	ns
FP	Pfr20	20.868	0.022	*
FP	Pfr35	12.665	0.005	**
IZ	Pfr2	0.247	0.619	ns
IZ	Pfr13	2.031	0.154	ns
IZ	Pfr18	1.107	0.775	ns
IZ	Pfr20	6.759	0.748	ns
IZ	Pfr35	22.551	0.000	***
KD	Pfr2	0.408	0.523	ns
KD	Pfr13	1.839	0.175	ns
KD	Pfr18	1.749	0.626	ns
KD	Pfr20	4.453	0.925	ns
KD	Pfr35	7.593	0.006	**
KP	Pfr2	0.183	0.980	ns
KP	Pfr13	6.219	0.013	*
KP	Pfr18	4.300	0.636	ns
KP	Pfr20	15.457	0.419	ns
KP	Pfr35	0.248	0.618	ns
MK	Pfr2	0.016	0.901	ns
MK	Pfr13	7.244	0.007	**
MK	Pfr18	2.368	0.500	ns
MK	Pfr20	12.433	0.257	ns
MK	Pfr35	7.457	0.059	ns
NK	Pfr2	3.793	0.051	ns
NK	Pfr13	12.648	0.000	***
NK	Pfr18	66.652	0.000	***
NK	Pfr20	12.751	0.994	ns
NK	Pfr35	96.950	0.000	***

集団内（植栽地内）における個体間での遺伝的相関があるかを明らかにする目的で、FASTAT を用いて Wright の近交係数 F_{IS} を算出した（表-7）。 F_{IS} の値が 0 に有意に近ければ集団内で遺伝的に近いものとの交配を繰り返していること、つまり近親交配を意味する。また、対立遺伝子数、allelic richness、の各遺伝子座の平均値を表にまとめた。

表-7. 各調査地の固定指数の平均値

Pop	Na	Ne	F_{IS}
KD	2.8	2.7	-0.229
NK	4.2	3.3	-0.063
KP	3.4	3.1	-0.134
MK	3	3.0	-0.342
FP	3.2	3.1	-0.001
IZ	3	3.0	-0.13

表-8. 各調査地の各遺伝子座における固定指数

Locus	KD	NK	KP	MK	FP	IZ
Pfr2	-0.118	0.214	-0.044	0	-0.6	-0.086
Pfr13	-0.28	-0.333	-0.388	-0.635	-0.188	-0.295
Pfr18	-0.13	-0.309	-0.127	-0.257	0.161	-0.024
Pfr20	0.159	0.04	0.082	0.127	0.304	-0.077
Pfr35	-0.6	0.345	-0.067	-0.54	0.338	-0.14

各調査地の各遺伝子座の F_{IS} を検定したところ、いずれも 0 から有意な偏り ($P > 0.005$) はなかった（表-8）。

V-2-3. 考察

各集団における遺伝的多様度は各調査地によって傾りがなかった。感染が少数の感染源から拡大した場合は多様性が著しく低いことが知られているが、今回そのような傾向が得られなかったことから、感染の拡大が少数の感染源からではないことが示唆された。

どの植栽地においてもハーディーワインバーク平衡からの有意なずれがあり、その原因として近親交配が考えられたが、Wright の近交係数 F_{IS} から植栽地内では近親交配によるものではないことが示唆された。ハーディーワインバーク平衡からのずれは、他の要因にあると考えられる。

V-3. 植栽地間の遺伝的構造の相関からみた遺伝的分化

ベッコウタケの地域による遺伝的構造の分化を明らかにするために、各植栽地間でペアワイズ F_{ST} 解析を行った。遺伝的な分化が進行していれば、その調査地は外部との遺伝的交流が少なく、分化が進むほど交配を繰り返したことを示唆する。

V-3-1. 材料・方法

多型解析の結果をもとに植栽地間での遺伝的分化を Weir and Cockerham の θ による地域間での配偶子の相関を算出し(1984)、Bonferroni 多重比較検定を行った。

θ は比較している集団間の分散と集団内の個体の分散から算出する植栽地間の相関係数で、Wright の固定指数 F_{ST} に相当している (以下: F_{ST} と記述する)。集団間の F_{ST} の値が 0 に近い場合が遺伝的な相関があり、0 から偏っている場合が遺伝的な相関がないことを示唆する。

各調査地間で総当りを行い、調査地間それぞれの F_{ST} を算出した。算出した F_{ST} は Bonferroni 多重比較検定($p < 0.05$)により 0 からの偏りを検定した。

V-3-2. 結果

植栽地間での総当りの F_{ST} の値とその検定結果を表-9 に示す。富士森公園と他の集団のいずれとも F_{ST} が有意に 0 からの偏りがあった ($p < 0.05$)。他の集団間ほどの組み合わせにおいても F_{ST} の 0 からの有意な偏りがなかった。

表-9. 調査地間における全近郊係数と検定結果

F_{ST}	IZ	KD	KP	MK	NK
FP	0.0662	0.0481	0.076	0.0774	0.0642
IZ		0.0092	0.0346	0.0004	0.0111
KD			0.001	-0.008	0.0008
KP				-0.0027	0.0079
MK					-0.0055
	IZ	KD	KP	MK	NK
FP	*	*	*	*	*
IZ		NS	NS	NS	NS
KD			NS	NS	NS
KP				NS	NS
MK					NS

V-3-3. 考察

富士森公園と他の集団の間で F_{ST} が有意に 0 からの偏りがあったこと ($p < 0.05$) から、富士森公園のベッコウタケが遺伝的に分化していると考えられる。他の地域は遺伝的な分化をしていなかった。

遺伝的分化が起こるためには集団が成立してから、分化を行うほど交配を繰り返している必要があり、遺伝子の移入があると分化が進まない。今回、対象とした日光街道や小金井並木は歴史の古いサクラ並木である。そのことを考慮すると、富士森公園以外の植栽地で遺伝的分化が進んでいない理由として、植栽地外との遺伝的交流の可能性が示唆された。

V-4. 子実体の空間分布と遺伝的構造の相関からみた孢子分散能力

ベッコウタケが孢子により感染を広げている可能性が示唆されている。より詳細な孢子（感染源）の感染様式を明らかにする目的で、植栽地内に発生していた子実体の空間分布とその遺伝的構造との相関を解析した。空間的距離と遺伝的距離との相関を明らかにすることで、孢子がどの程度の距離階級まで分散しているかを知ることが期待できる。

V-4-1. 材料・方法

Smouse and Peakall(1999)の r による空間的自己相関を評価した。 r は同じ距離階級にある遺伝子座から対立遺伝子をランダムに選ぶとき、それらが一致する確立から求めた係数である。 r が大きくなるほど、その距離階級において同じ対立遺伝子が多くあること、つまりは遺伝的に近縁なものが存在する確立が多いと推察できる。 r の相関がある距離階級を求めることで、どの距離階級において遺伝的相関を持つかを明らかにし、孢子（感染源）の分散能力を推定することを目的とした。U はランダムな場合の上限、L は下限の値 ($p < 0.05$) で、これ以上の係数であれば有意に相関があることを示している。

日光街道と小金井公園を対象の植栽地とした。これらの植栽地は 2009 年におけるベッコウタケ子実体の採取数が多く、日光街道が線的な、小金井公園が面的な分布をしており、サクラの分布の様式の違いも考察するために選定された。

V-4-2-1. 結果（日光街道・小金井公園）

日光街道と小金井公園におけるベッコウタケの発生位置と遺伝子型の類似性との関係を空間的自己相関により評価した結果を以下の図-9,10 に示す。

日光街道の 1.4km の距離階級と小金井公園の 60m の距離階級にのみ非常に弱い有意な正の自己相関があった以外は ($p < 0.05$)、樹木が隣接するような近距離でも有意な正の自己相関は見られなかった(図-10)。

有意な相関が得られなかった理由として、解析数の少なさが考えられる。そこで、各調査地での空間的自己相関ではなく、全ての調査地における空間的距離と遺伝子型の類似性から空間的自己相関を評価し、ベッコウタケの感染拡大能力を推定することにした。

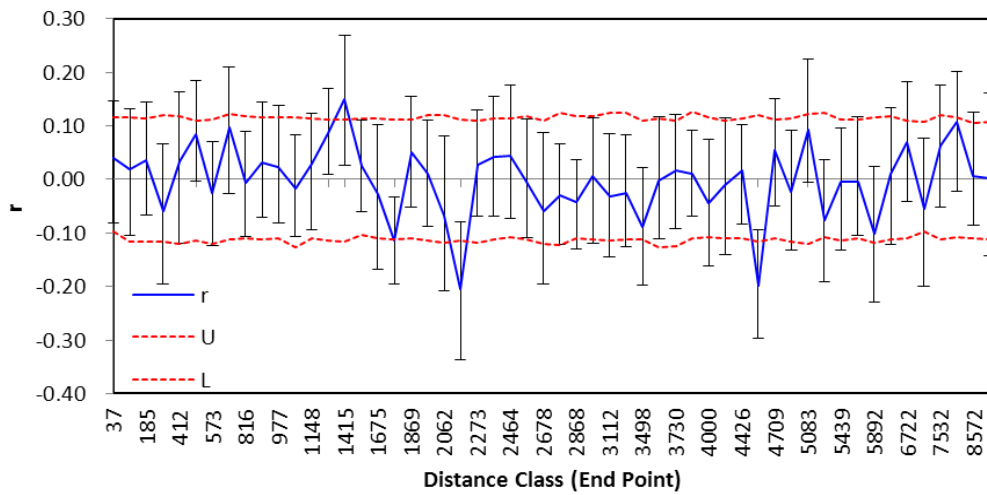


図-9. 日光街道における空間的自己相関係数

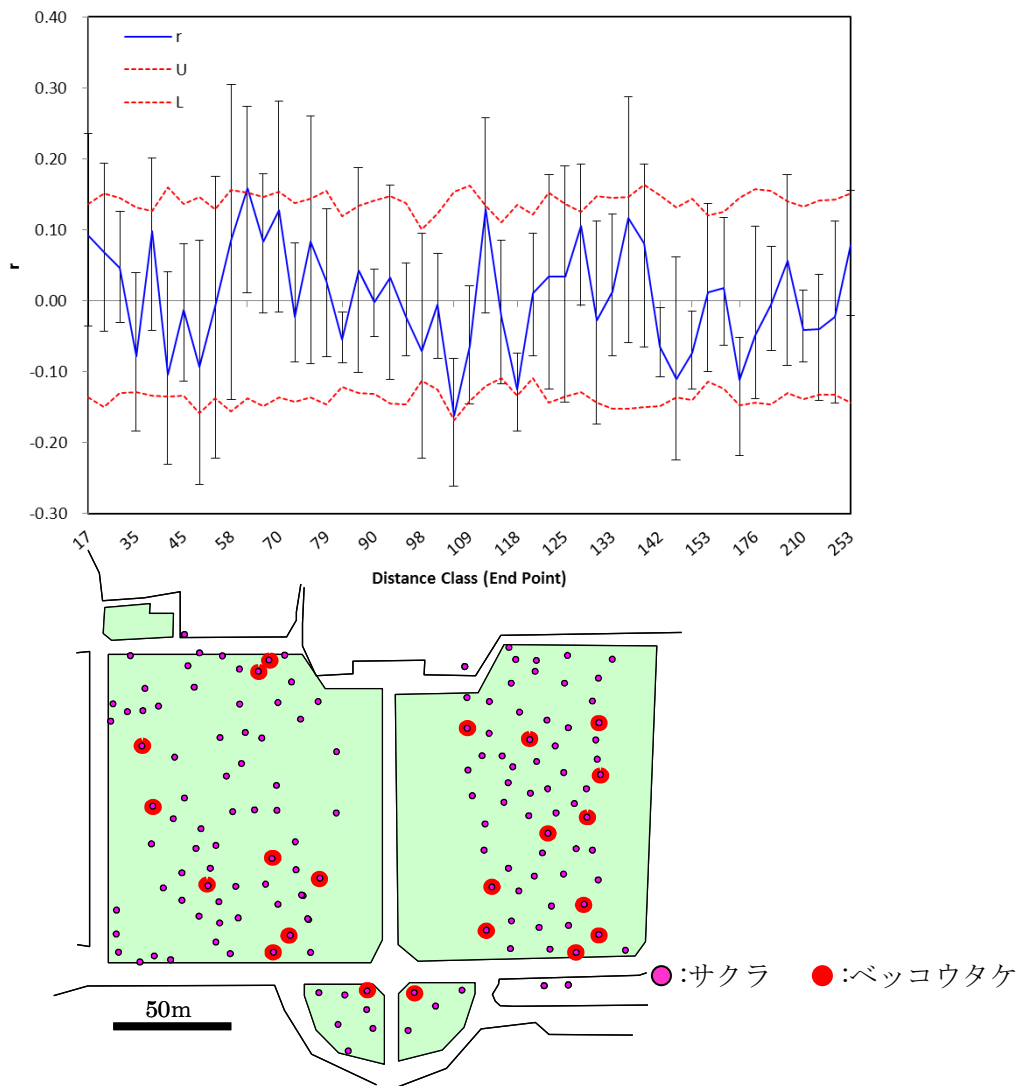


図-10. 小金井公園における空間的自己相関係数(上図)と小金井公園における分布(下図)

V-4-2-2. 結果（全地域）

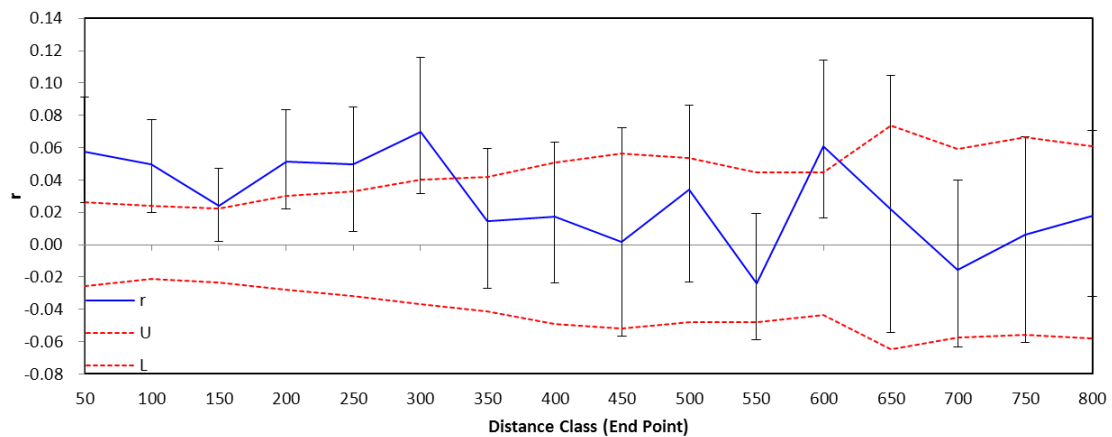


図-11. 全地域による空間的自己相関係数

全ての調査地における空間的距離と遺伝子型の類似性から空間的自己相関を評価した結果を図-11.に示す。調査地ごとに空間的自己相関を評価した時よりもランダムである信頼区間が狭くなり、300m 付近まで遺伝的類似性に有意な正の相関が得られた。

V-4-3. 考察

地域ごとに空間的自己相関係数を求めた際は、解析数が少なかったため、有意の正の相関がほとんどの距離階級で得られなかった。全調査地における子実体の空間的距離と遺伝的類似性から解析数を増やし、解析を行ったところ、300m 付近まで有意な正の相関が得られた。この結果から、感染可能な孢子の飛散が少なくとも 300m の範囲まで多く行われていると考えられる。

V-5. サクラ樹木内での腐朽菌の遺伝的構造の変化

ベッコウタケは樹木内で腐朽を進行し、一度子実体が発生した樹木では外科治療により腐朽部分を取り除かない限り腐朽病害は治癒しないとされている。その理由として、一度腐朽した腐朽菌が樹木内に内在し続けると推察されているが、そのことを明らかにした研究はない。

そこで、同じ樹木個体から発生した子実体について、発生年度の違いと発生位置の違いによる遺伝的構造の変化を多型解析の結果より比較した。清水(2009)は、同じ樹木個体において発生位置の異なる子実体でもジェネットのの違いがないことを対峙培養の結果から示唆している。

V-5-1. 材料・方法

年を経て同じ樹木個体に発生した子実体の遺伝子組成の比較を行った。材料は日光街道より 2007, 2009, 2010 年に採取したものをを用いた。2007 年の材料は清水氏により提供された。

2009 年において日光街道で同じ樹木個体の異なる位置（方向）に発生した子実体の遺伝子組成を比較した。

V-5-2. 結果

同じ樹木個体において年を経ても同じ遺伝子型を示すものもあったが、遺伝子型が変化するものも多く観察された(表)。表中の赤字は前年から変化した対立遺伝子を表している。年によって遺伝子型が変化しているものの各遺伝子座で、1つの対立遺伝子が増加するものが大半であった。

同じ樹木個体の異なる位置から発生した子実体の遺伝子型が異なる場合もあった。発生位置によって異なる遺伝子型を持つ場合においても、中には1つの遺伝子座の両方の対立遺伝子が増加しているものもあったが、片方の対立遺伝子が増加しているものがほとんどであった。

表-10. 同じ樹木個体に異なる年次で発生した子実体の遺伝子組成

個体番号	年度	2	2	13	13	18	18	20	20	35	35
E0009	2007	c	c	a	b	a	c	g	g	c	d
E0009	2010	c	c	a	b	a	c	g	g	c	d
E0235	2007	c	c	b	b	c	d	g	g	c	d
E0235	2009	c	c	b	c	a	c	g	g	c	d
E0235	2010	c	c	a	b	a	c	g	g	c	d
E0295N	2009	c	c	a	a	a	d	g	g	c	d
E0295S	2009	c	c	a	c	a	c	g	g	c	d
E0295	2010	c	c	a	b	a	c	g	g	c	c
W0870	2007	c	c	a	b	a	c	g	g	c	c
W0870	2009	c	c	a	b	a	b	d	g	c	c
W0870	2010	c	c	a	a	a	c	d	g	c	c
W0874	2007	c	c	a	b	a	d	g	h	c	d
W0874S	2009	c	c	a	b	a	d	g	h	c	d
W0874W	2009	c	c	a	b	a	d	g	g	c	d
W0874	2010	c	c	a	b	a	a	g	h	c	d
W0912	2007	c	c	a	b	a	c	g	g	d	d
W0912	2009	c	c	a	b	a	c	g	g	d	d
W0912	2010	c	c	a	b	a	a	g	g	c	c
W1123	2007	c	c	a	b	a	c	g	h	c	c
W1123	2009	c	c	a	b	a	c	g	h	c	c
W1123	2010	c	c	a	b	a	c	g	h	c	c
W1131	2007	c	c	a	b	a	c	g	g	c	c
W1131	2009	c	c	a	a	a	d	g	g	c	d
W1131	2010	c	c	a	b	a	c	g	g	c	c

表-11. 同じ樹木個体に異なる位置に発生した子実体の遺伝子組成

個体番号	年度	2	2	13	13	18	18	20	20	35	35
E0295N	2009	c	c	a	a	a	d	g	g	c	d
E0295S	2009	c	c	a	c	a	c	g	g	c	d
E0517E	2009	c	c	a	a	a	a	g	g	a	a
E0517W	2009	c	c	b	b	a	c	g	g	a	a
W0704S	2009	c	c	a	b	a	c	f	g	c	c
W0704W	2009	c	c	a	b	a	c	f	g	c	c
W0819S	2009	c	c	a	b	a	c	g	g	c	c
W0819W	2009	c	c	a	b	a	c	g	g	c	c
W0874S	2009	c	c	a	b	a	d	g	h	c	d
W0874W	2009	c	c	a	b	a	d	g	g	c	d
W0950N	2009	c	c	a	b	a	d	f	g	c	c
W0950S	2009	c	c	b	b	a	d	f	g	c	c

V-5-3. 考察

同一の樹木個体に発生したベッコウタケ子実体は年次により、または発生位置の違いにより、異なるジェネットである場合が多く見られた。しかし、その変化は対立遺伝子の片側が変わるものが多かった。

ベッコウタケの性は4極性であり、同じ子実体から散布された担子孢子同士が交配できる確立は4分の1である。ベッコウタケは担子孢子を生産する際に減数分裂を行う。この孢子は、一次菌糸と呼ばれる半数体の菌糸を伸ばすことができる。これに対し、親のベッコウタケは2倍体であり、二次菌糸と呼ばれている。通常の交配は孢子から発芽した一次菌糸の融合による二次菌糸の形成をいうが、二次菌糸と1次菌糸との交配である、ダイモン交配も知られている。ダイモン交配によって生まれた二次菌糸は、二次菌糸のもっていた遺伝子の半分と一次菌糸の遺伝子型とを受け継いだ2倍体と成る。ダイモン交配が行われると、もとの二次菌糸からみると、遺伝情報の半分つまり対立遺伝子の片方が変化することになる。

同じ樹木個体から発生した子実体の遺伝子型をみると、対立遺伝子の片方のみが変化している場合が多いことから、ベッコウタケがダイモン交配をした可能性が考えられる。例えば、既に腐朽が進行し子実体の形成を行っている二次菌糸の子実体の元へ別の子実体由来の担子孢子が飛来し、ダイモン交配を行い遺伝的な変化を起こしている可能性が考えられる。

VI.総合考察

VI-1.子実体発生消長からみた腐朽病害の実態解明

サクラ植栽地において根株付近に最も多く発生する木材腐朽菌はベッコウタケであった。2009年度において最も子実体発生が多く確認されたいずみ野では、およそ5本に1本から子実体が発生していた。いずみ野では2010年に腐朽病害への大規模な対策として、腐朽病害が確認されていないサクラ8個体を残し、それ以外の個体の伐採および伐根、苗木の植栽が行われた(図-12.)。しかし、植栽された苗木の土壌中には腐朽の感染源となりうる白色の木材の破片があった(図-12.)。今後、このような状況のサクラ植栽地における腐朽病害の実態を調査することで、腐朽病害の感染様式についての重要な知見が得られると考えられる。

日光街道のベッコウタケについて年次変化を詳細に追うことで、子実体発生消長が明らかになった。この結果から、通常の行政で行われるような単年の調査では被害木の4割程度が見落とされている可能性が示された。また、3年間調査することで被害木のおよそ95%が発見できるという知見が得られ、腐朽病害の実態解明には少なくとも3年以上の腐朽病害の調査が必要であることが示された。

市民団体の名勝小金井桜を守る会は、腐朽病害の観察を含めた樹勢調査を毎年行っており(図-12.)、こうした継続的な活動が腐朽病害の実態を解明するうえで重要となる。これまでの調査は腐朽菌子実体(きのこ)の有無という観点であるため、今後、腐朽菌の種の同定を含めた調査を行うことでより正確な実態把握が可能になると考えられる。子実体の断片から、ベッコウタケおよびコフキタケの遺伝子解析による同定が行えることが確認され、遺伝子解析では大量の試料をまとめて短時間で同定できる。そのため、野外での形態観察による同定が困難な際は子実体の採取と保存が望まれる。

複数年の調査にも関わらず、新規に子実体を発生している個体が確認されており、これらの個体は被害木の見落としではなく感染が拡大していることを示唆した。



図-12. 左から 名勝小金井桜を守る会の樹勢調査、いずみ野でのサクラの伐根の様子(2010年)、いずみ野の土壌中の白色の木材(2010年)

VI-2. 遺伝的構造の解析による感染様式の解明

SSR マーカーを用いた遺伝的構造の解析により、複数の感染源が任意交配をして感染を拡大している可能性が示された。さらに、隣接した樹木間でも異なる遺伝子型をもつことから、感染の拡大が孢子により行われていることが示された。感染可能な孢子の飛散は空間的距離と遺伝的類似性の相関から、少なくとも300m の範囲まで行われていることが推測された。これらのことより、ベッコウタケ子実体から300m 以内にある樹木については、剪定などによるストレスを与えないことや、腐朽菌の侵入口となる根の露出や損傷を避けることなど、特に注意した感染のリスクマネジメントが望ましい(図-13.)。また、感染源となる孢子を生産する前に子実体を除去することが望ましい。

ベッコウタケの地域による分化がほとんどないことから、分化が進むほど交配を繰り返していない可能性を示した。このことから、ベッコウタケが古くから各地域に分布・分化しており、新たに植栽された個体に各地域に存在したベッコウタケから感染したのではないことを示す。つまり、サクラ植栽地の拡大にしたがってベッコウタケの分布も拡大した可能性が推察される。または分化が起こらない理由として、各地域間での遺伝的交流が行われている可能性も考えられる。今後、地域による分化を明らかにするために、調査地を西日本など広範囲の地域に拡大するとともにマーカーの数を増やすなど、検出力を高めることが必要である。

同一樹木内でも、発生年度や方向により異なる遺伝子型をもつ子実体があったことから、同一樹木内に複数の個体が混ざりあって存在する可能性が示された。特に対立遺伝子の片方のみ異なっていることが多いことから、ダイモン交配をしている可能性が示唆された。同樹木内で遺伝子型が多様な場合は樹木間での比較が難しくなるため、同樹木内でどの程度のばらつきを持つかを明らかにすることは非常に重要である。今後、樹木を解剖し樹木内の各菌株の分布を明らかにすることや、作為的な交配を行った培養菌糸による実験でダイモン交配の起こりやすさやその際の遺伝子型の変化を明らかにすることで、これらの可能性について明らかにする必要がある。

今回用いた SSR マーカーではごく限られた個体のみ見つかるような遺伝子型(rare allele)が存在せず、遺伝子型から親個体の推定をするには到らなかったが、今後、こうした rare allele を見つけ解析することでより詳細な感染様式の解明につながると考えられる。

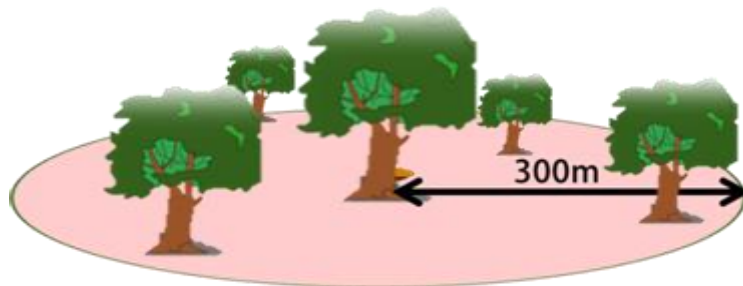


図-13. ベッコウタケの孢子による感染拡大可能な範囲模式図

Ⅶ.引用文献

- 阿部恭久(1999):樹木の腐朽病害(鈴木和夫編, 樹木医学. 朝倉書店, 東京).
- 阿部恭久(2002): サクラの主要な病害虫 3. 幹腐朽病害. 林業と薬剤, **161**:18-23.
- Aho, P. E., Filip, G. M., and Lombard, F. F. (1987): Decay fungi and wounding in advance grand white fir regeneration. *Forest Service*, **33**(2):347-355.
- Antonin, V., Jankovsky, L., Lochman, J. and Tomsovsy, M. (2006): *Amellaria socialis* – morphological - anatomical and ecological characteristics, pathology, distribution in Czech Republic and Europe and remarks on its genetic variation. *Czech Mycol.*, **58**(3-4):209-224.
- 青島清雄・椿啓介・三浦宏一郎(1983):菌類研究法. 共立出版株式会社, 東京.
- 浅川充(1999):台風 7 号による富田林市の街路樹・公園樹木の被害状況. ツリドクター, **7**: 204-209.
- Barrett, D. K. and Greig, B. J. W. (1985): The occurrence of *Phaeolus schweintizii* in the soils of Sitka spruce plantations with broadleaved on non-woodland histories. *Eur. J. For. Path.*, **15**:412-417.
- Boddy, L. and Rayner, A. D. M. (1983): Origins of decay in living deciduous trees: the role of moisture content and are – appraisal of the expanded concept of tree decay. *New phytol.*, **94**:623-641.
- Dahlberg, A. and Stenlid, J. (1990): Population structure and dynamics in *Suillus bovinus* as indicated by spatial distribution of fungal clones. *New phytol.*, **115**:487-493.
- Dobrowolski, M. P., Tommerup, I.C. and O'Brien, P. A. (1998): Microsatellites in the mitochondrial genome of *Phytophthora cinnamomi* failed to provide highly polymorphic markers for population genetics. *Nicribiology etters.*, **163**:243-248.
- Fukihara, T. and Kato, M. (1997): An analysis on the spatial distribution patterns of basidiocarps of Agaricales in a *Castanopsis*-dominated forest in Kyoto. *Mycoscience*, **38**:37-44.
- 福岡忠彦・高橋晃・布施静香(2007):兵庫県三田市の街路樹調査. 人と自然, **17**:35-41.
- Gardes, M., and Bruns, T. D. (1993): ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Eco.*, **2**:113-118.
- Guglielmo, F., Bergemann, S. E., Gonthier, P., Nicolotti G. and Garbelotto M. (2007): A multiplex PCR-based method for the detection and early identification of wood rotting fungi in standing trees. *J. Applied*

- Microbiology*, **103**:1490-1507.
- Guollaumin, J. J., Anderson, J. B., Legrand, P., Ghahari and S., Berthelay, S. (1996): A comparison of different methods for the identification of genets of *Armillaria* spp.. *New phytol*, **133**:333-343.
- Hansen, E. M., Stenlid, J. and Johansson, M. (1993): Genetic control of somatic incompatibility in the root-rotting basiomycete *Heterobasidion annosum*. *Mycol. Res.*, **97**(10):1229-1233.
- 久林高市・服部力(2002):ヒノキ林における 2 種の根株心腐れ病菌のクローン分布. 日林誌, **84**(2):104-110.
- 本間暁(2007):天然記念物 山高神代ザクラ. 樹木医学研究, **11**(4):234-240.
- 本間暁(2008):天然記念物 角館のシダレザクラ. 樹木医学研究, **12**(4):222-227.
- 細野哲央(2006):樹木が落下直撃した事故の裁判事例にみる管理者の法的責任と植栽内容の関係. ランドスケープ研究, **69**(5):465-470.
- 衣川賢二郎(1990):きのこの生物学シリーズ 3 キノコの遺伝と育種. 築地書館, 東京.
- 石井匡志・三島孔明・藤井英二郎(2004):剪定強度の違いがシラカンの葉及び根系生長に及ぼす影響に関する実験的研究. ランドスケープ研究, **67**(5):475-478.
- 市村恒士・岡田孝幸・柳井重人・丸田頼一(1999):都市公園における樹木の二酸化炭素固定効果に関する研究. 日本都市計画学会学術研究論文集, **34**:1-6.
- 一ノ瀬友博(2006):大阪市中心部の街路樹と越冬期の鳥類の出現状況の関係. ランドスケープ研究, **69**(5):537-540.
- James, R. L., Cobb, Jr. F. W., Miller, P. R. and Parmeter, Jr. J. R. (1980): Effects of Oxidant air Pollution on Susceptibility of Pine Roots to *Fomes annosus*. *Ecology and Epidemiology*, **70**(6):560-563.
- James, T. Y. and Vilgalys, R. (2001): Abundance and diversity of *Schizophyllum commune* spore clouds in the Caribbean detected by selective sampling. *Molecular Ecology*, **10**:471-479.
- Jellison, J. and Jasalavich, C. (2000): A review of selected methods for the detection of degradative fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **46**:241-244.
- 角館町教育委員会(2000):名勝檜木内川堤(サクラ)保存管理計画策定報告書. 角館町教育委員会, 秋田.
- 鶴川健也・加藤和弘(2006):都市域の中・大規模樹林地における鳥類の種多様性と立地環境との関係. ランドスケープ研究, **69**(5):533-536.
- Kanchanaprayudh, J., Lina, C., Zhou, Z., Hogetsu, T. and Sihananth, P. (2002): Polymorphic microsatellite markers of a *Pisolithus* sp. from a *Eucalyptus*

- plantation. *Mol.Eco.Note*, **2**:263-264.
- 小林明(2007):2006年の東京都におけるサクラ類の主な害虫. 樹木医学研究, **11**(4): 157-159.
- 小松雅史・松下範久・高橋由紀子・宝月岱造(2010):サクラてんぐ巢病菌のソメイヨシノ樹体内における潜伏部位. 第121回林学会要旨集.
- 久保光(2005):街路樹の本数と樹種の推移. 福井県雪対策・建設技術研究所 年報地域技術, **18**:45-48.
- 工藤豊・下村彰男・小野良平(2008):戦前期の新聞記事にみる都市住民と街路樹との関わりの変遷に関する研究. ランドスケープ研究, **7**(5):769-772.
- Makarova, O.V. (2003): Soil technological and other ecological aspects of state of trees in Moscow, profchift van Wageningen Universiteit. PhD Thesis, Wageningen University, Netherlands.
- Mattheck, C. and Breloer, H. (1994): Body Language of Trees - A handbook for failure analysis, Rombach GmbH (藤井英二郎・宮越リカ(訳)(1998):樹木からのメッセージー樹木の危険度診断, 誠文堂新光社, 東京).
- 松下範久・兼平千央・鈴木和夫(2006):rDNA-IGS1領域のPCR-RELP分析に基づく日本産サクラてんぐ巢病菌(*Taphrina wiesneri*)の遺伝的多様性. 樹木医学研究, **10**(1): 11-18.
- Mousadik, A. E. and Petit, R. J. (1996): High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Arania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Marocco. *Theor Appl Genet*, **92**:832-839.
- Murray, M. G. and Thompson, W. F. (1980): Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, **8**(19):4321-4325.
- 日本緑化センター(2008):最新・樹木医の手引き 改訂3版. 財団法人 日本緑化センター, 東京.
- 日本植物病理学会編著(2000):日本植物病名目録. 社団法人 日本植物防疫協会, 東京.
- 西谷裕子・高瀬雅子・福田健二・鈴木和夫(1998):クスノキ衰退木の処置と樹体の生理状態. 東京大学農学部演習林報告, **99**:185-197.
- 西桂(2005):日本の庭園文化 歴史と意匠をたずねて. 学芸出版社, 京都.
- 岡山瑞穂(2009):PiCUS 弾性波画像診断システムによるサクラの診断例. 樹木医学研究, **13**(4):222-223.
- 岡澤信一・山岡好夫・石丸勇介(2009):横浜市磯子区に生育する街路樹の木材腐朽状況調査. 樹木医学研究, **13**:152-153.
- 大田祐子(2006):ナラタケ属菌の分類・系統・生態およびならたけ病の防除. 樹木医学研究, **10**(1):3-10.

- Peakall, R. and Smouse, P. E. (2006): genalex6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Eco. Notes*, **6**:288-295.
- Queller, D. C., C., Strassmann, J. E., Hughes, C. R. (1993): Microsatellites and Kinship. *Trees*, **8**(8): 285-288.
- Rajderkar, N. R. (1965): Decay of wood by alternaria and penicillium and chief methods of control. *Mycopathologia*, **30**(2):149-151.
- Schwarze, F. W. M. R., Engels, J. and Mattheck, C. (1999): Fungal Strategies of Wood Decay in Trees. Springer, New York.
- 関山翔・小島拓夫・山岡好夫(2010):ニヶ領用水ソメイヨシノ並木の外観診断. 樹木医学会大会集, 54.
- 千田智基・渡辺直明(2000):ベッコウタケの子実体形式と担子胞子生産. 52 回日林関東誌論, 113-116.
- 下村泰彦・増田昇・安部大就(1989):歩行行動特性に基づく街路緑化形態に関する研究. 造園雑誌, **52**(5):324-329.
- 清水淳子(2009):サクラ並木における腐朽病害発生のリスクファクターの解明. 学位論文, 東京大学大学院, 東京.
- 清水淳子・羽切俊勝・池本三郎・福田健二(2009):いずみ野駅前通桜並木における根株腐朽診断法の検討. 樹木医学研究, **13**:154-155.
- 清水淳子・林康夫・福田健二(2008):国指定名勝小金井桜の腐朽病害とその発生要因. ランドスケープ研究, **71**(5):865-867.
- 白石洋一・岡田佑樹・吉澤光三(2008):ウェーブレット解析を用いた, 打音による樹幹内部の欠陥推定方法. 日林誌, **90**(4):223-231.
- 城川四郎(1996):猿の腰掛け類 きのご図鑑. 神奈川キノコの会編, 青島清雄校閲, 地球社, 東京.
- Smouse, P. E. and Peakall, R. (1999): Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity*, **82**:561-573.
- Steimel, J., Engelbrecht, C. J. B. and Harrington, T. C. (2004): Development and characterization of microsatellite markers for the fungus *Ceratocystis fimbriata*. *Mol. Eco. Note*, **4**:215-218.
- 鈴江真由子・渡辺直明(2006):サクラ樹林地におけるベッコウタケの繁殖戦略. 第117回林学会要旨集.
- 鈴木敏・澤田晴委智郎(1993):公園のはなし. 技報堂出版, 東京.
- 杉山智昭・森満範・宮内輝久・佐藤真由美・中谷誠・原田陽(2003):分子生物学的手法による

- 木材腐朽菌の同定. 林産試験場報, **17** (2):6-11.
- 杉山智昭・森満範・宮内輝久・中谷誠・原田陽(2003):PCR法による木材腐朽菌の同定. 木材保存, **29** (3):98-104.
- Tabata, M., Suyama, Y. and Abe, Y. (2009): Distribution of Genets of *Perenniporia subacida* in stands of *Chamaecyparis obtusa* (Japanese Cypress) determined by AFLP fingerprints and somatic incompatibility. *Plant Disease*, **93**(8):826-831.
- 多田充・藤井英二郎(2006):生理・心理的応答からみた緑陰の視覚的快適性. ランドスケープ研究, **69** (5):475-478.
- Takagi, M. and Gyokuse, K. (2004): Light and atmospheric pollution affect photosynthesis of street trees in urban environments. *Urban For. Urban Green.*, **2**:167-171.
- 竹藪やよい(1999):名古屋市の街路樹と台風7号. ツリドクター, **7**:32-34.
- 寺田徹・横張真・田中伸彦(2009):大都市郊外部における緑地管理及び木質バイオマス利用によるCO₂固定量/排出削減量の推定. ランドスケープ研究, **72** (5):723-726.
- Thomsem, I.M. and Koch, J. (1999): Somatic compatibility in *Amylostereum areolatum* and *A.chailletii* as a consequence of symbiosis with siricid woodwasps. *Mycol.Res.*, **103**(7): 817-823.
- 東京都教育委員会(1995):名勝小金井桜(サクラ)現況調査報告書:16-20.
- 東京都建設局公園緑地部(2006):平成18年度街路樹診断マニュアル. 東京都建設局公園緑地部計画課道路緑化計画係, 東京.
- 富田改・山本謙一(2007):非破壊樹木診断器による街路樹の腐朽実態調査事例. 樹木医学研究, **11** (3):132-133.
- 栃木県宇都宮土木事務所, 株式会社総研(2004):一般国道119号桜等並木調査業務委託. 報告書, 7-8.
- Tuinen, D., Jacquot, E., Zhao, B., Gollotte, A. and Gianinazzi-Person, V. (1998): Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA – targeted nested PCR. *Molecular Ecology*, **7**:879-887.
- Ulrich, R. S. (1981): Natural versus urban scenes: "Some Psychophysiological Effects". *Environment and Behavior*, **13**(5):523-526.
- 内田均・久保田和美(2004):東京都内の公園における植栽樹木の推移について. ランドスケープ研究, **67** (5):457-460.
- 内田均・島村拓也・堀大才(2008):ソメイヨシノ(*Prunus yedoensis* Matsum.)における防菌処理の違いが損傷被覆組織形成に及ぼす影響. ランドスケープ研究, **71** (5):511-514.

- 渡辺直明・黒坂登(2006):名勝檜内川堤(サクラ)におけるベッコウタケ子実体発生変動. 樹木医学会 10 回大会要旨集.
- 渡辺直明・大久保陽子(2005):異なる培養条件下でのベッコウタケと他の菌の拮抗. 第 116 回 林学会要旨集.
- 渡辺達三(2000):「街路樹」デザイン新時代. 裳華房, 東京.
- Weir, B. S. and Clark, C. (1984): Estimating F-statistic for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**(6):1358-1370.
- Worrall, J. J. (1997): Somatic incompatibility in basidiomycetes. *Mycologia*, **89**(1):24-36
- 山本歩・松田陽介・伊藤進一郎(2007):サクラてんぐ巢病の防除法の確立をめざして - これまでの知見と今後の展望 - . 樹木医学研究, **11**(3):115-120.
- 吉田重好(2009):静岡県河津町‘カワヅザクラ’の現状と健康上の課題. 樹木医学会第 14 回大会講演要旨集, 4-5.
- 幼菌の会編著(2001):きのこの図巻. 本郷次雄監修, 家の光協会, 東京.

謝辞

本研究への助成を賜った財団法人とうきゅう環境浄化財団に厚くお礼申し上げます。

本研究は、多くの方のご協力のもとに行われました。

名勝小金井桜を守る会事務局の小沼廣和氏をはじめ守る会の皆様には貴重な資料の提供や調査への同行などの御世話になりました。

八王子市公園課の生亀正照氏には富士森公園の樹木位置図の提供、現地の案内を頂きました。

いずみ野と台場の埠頭公園の調査には樹木医であり自然への奉仕者・樹木医協力会の長谷川芳男副理事長、東京港埠頭株式会社公園事業家の鈴木健一氏に現地にて倒木現場の説明や樹木診断の御指導を頂きました。

角館での調査では樹木医の黒坂登氏には現地調査の便宜を図って頂くとともに、調査にご同行頂きました。

都立小金井公園事務所の担当者各位には、調査許可、腕章の貸出し等のご協力を頂きました。このほか、多くの方に調査へのご協力を頂きました。

東京大学大学院農学生命科学研究科森林植物学研究室の高橋由紀子博士には、遺伝子解析の指導を頂きました。

これらの方々に、厚くお礼申し上げます。

付録1.日光街道のベッコウタケ発生個体

ベッコウタケ被害木(生立木)							発生率(%)	
	2003	2004	2005	2006	2007	2009	通年	翌年 以降
E0008	+	+	+	+	+	+	100.0	100.0
E0755	+	+	+	+	+	+	100.0	100.0
W0016	+	+	+	+	+	+	100.0	100.0
W0141	+	+	+	+	+	+	100.0	100.0
E0753	+	+	+	+	+	-	83.3	80.0
E0949	+	+	+	+	-	-	66.7	60.0
E0776	+	+	+	伐	伐	伐	100.0	100.0
E0643	+	+	-	+	+	+	83.3	80.0
E0754	+	+	-	+	+	+	83.3	80.0
E0736	+	+	-	+	-	+	66.7	60.0
E0716	+	+	-	+	-	-	50.0	40.0
E0356	+	-	+	+	+	+	83.3	80.0
E0669	+	-	+	+	+	+	83.3	80.0
W0598	+	-	+	+	+	+	83.3	80.0
W0707	+	-	+	+	+	+	83.3	80.0
W0731	+	-	+	+	+	+	83.3	80.0
W0950	+	-	+	+	+	+	83.3	80.0
W1256	+	-	+	+	+	+	83.3	80.0
W1053	+	-	+	+	+	-	66.7	60.0
W1079	+	-	+	+	+	-	66.7	60.0
W0876	+	-	+	+	-	+	66.7	60.0
W1123	+	-	+	+	-	+	66.7	60.0
E0353	+	-	+	+	-	-	50.0	40.0
E0702	+	-	+	+	-	-	50.0	40.0
W1065	+	-	+	+	-	-	50.0	40.0
W0925	+	-	+	伐	伐	伐	66.7	50.0
W0933	+	-	+	伐	伐	伐	66.7	50.0
W0936	+	-	+	伐	伐	伐	66.7	50.0
W0968	+	-	+	伐	伐	伐	66.7	50.0
E0235	+	-	-	+	+	+	66.7	60.0
E0340	+	-	-	+	+	+	66.7	60.0
E0345	+	-	-	+	+	+	66.7	60.0
E0352	+	-	-	+	+	+	66.7	60.0
E0517	+	-	-	+	+	+	66.7	60.0
W0871	+	-	-	+	+	+	66.7	60.0

W0874	+	-	-	+	+	+	66.7	60.0
W0909	+	-	-	+	+	+	66.7	60.0
W1131	+	-	-	+	+	+	66.7	60.0
E0760	+	-	-	+	+	-	50.0	40.0
E0414	+	-	-	+	-	+	50.0	40.0
W0870	+	-	-	+	-	+	50.0	40.0
W0898	+	-	-	+	-	+	50.0	40.0
W0912	+	-	-	+	-	+	50.0	40.0
E0507	+	-	-	+	-	-	33.3	20.0
E0836	+	-	-	+	-	-	33.3	20.0
E0635	+	-	-	-	-	+	33.3	20.0
E0322	+	-	-	-	-	-	16.7	0
W1056	+	-	-	-	-	-	16.7	0
W1073	+	-	-	-	-	-	16.7	0
W1122	+	-	-	-	-	-	16.7	0
E0510	+	-	-	伐	伐	伐	33.3	0
W0479	+	-	-	伐	伐	伐	33.3	0
E0921	+	伐	伐	伐	伐	伐	100.0	-
W0401	+	伐	伐	伐	伐	伐	100.0	-
W0683	+	伐	伐	伐	伐	伐	100.0	-
W0819	+	伐	伐	伐	伐	伐	100.0	-
W0922	+	伐	伐	伐	伐	伐	100.0	-
E0009	-	+	+	+	+	+	83.3	100.0
W1159	-	+	+	+	+	+	83.3	100.0
W0924	-	+	+	伐	伐	伐	66.7	100.0
W1227	-	+	-	-	-	+	33.3	25.0
W1206	-	+	-	伐	伐	伐	33.3	-
E0283	-	-	+	+	+	+	66.7	100.0
E0373	-	-	+	+	+	+	66.7	100.0
E0404	-	-	+	+	+	+	66.7	100.0
W0281	-	-	+	+	+	+	66.7	100.0
W0952	-	-	+	+	+	+	66.7	100.0
W1101	-	-	+	+	+	+	66.7	100.0
W1285	-	-	+	+	+	+	66.7	100.0
E0400	-	-	+	+	+	-	50.0	66.7
E0800	-	-	+	+	+	-	50.0	66.7
W0685	-	-	+	+	+	-	50.0	66.7
W0476	-	-	+	+	-	+	50.0	66.7
W0926	-	-	+	+	-	+	50.0	66.7
E0679	-	-	+	+	-	-	33.3	33.3

W1286	-	-	+	+	-	-	33.3	33.3
E0289	-	-	+	+	伐	伐	50.0	100.0
W0704	-	-	+	伐	伐	伐	33.3	-
W1061	-	-	+	伐	伐	伐	33.3	-
W1326	-	-	-	+	+	+	50.0	40.0
E0719	-	-	-	+	-	-	16.7	0.0
E0003	-	-	-	-	+	+	33.3	100.0
W0888	-	-	-	-	+	+	33.3	100.0
W0955	-	-	-	-	+	+	33.3	100.0
E0824	-	-	-	-	+	-	16.7	0
E902	-	-	-	-	+	-	16.7	0
W1304	-	-	-	-	+	-	16.7	0
W0934	-	-	-	-	+	伐	20.0	-
E0034	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0085	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0112	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0295	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0358	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0383	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0431	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0636	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0681	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0750	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0751	-	-	-	-	-	+	16.7	-
E0856	-	-	-	-	-	+	16.7	-
W0047	-	-	-	-	-	+	16.7	-
W01352	-	-	-	-	-	+	16.7	-
W0165	-	-	-	-	-	+	16.7	-
W0280	-	-	-	-	-	+	16.7	-
W0395	-	-	-	-	-	+	16.7	-
W0911	-	-	-	-	-	+	16.7	-
W0963	-	-	-	-	-	+	16.7	-

多摩川流域に植栽されたサクラ類の新たな腐朽病害対策の確立に関する研究

(研究助成・学術研究VOL. 40—NO. 297)

著 者 福田 健二

発行日 2011年12月1日

発行者 公益財団法人とうきゅう環境財団

〒150-0002

東京都渋谷区渋谷1-16-14 (渋谷地下鉄ビル内)

TEL (03) 3400-9142

FAX (03) 3400-9141

<http://www.tokyuenv.or.jp/>