

日本産マツノネクチタケの分類と生態

徳田 佐和子

Taxonomy and ecology of *Heterobasidion parviporum* in Japan.

Sawako TOKUDA

要 旨

ミヤマトンビマイ科マツノネクチタケ属に属する木材腐朽菌マツノネクチタケの種複合体：*Heterobasidion annosum* s.l. (広義) は、北半球広域に分布し、針葉樹を中心とした林木に著しい根株腐朽被害および枯死被害をもたらすもつとも重要な樹木病原菌のひとつである。そのため、海外では古くから本菌の生態や防除に関する集中的な研究がすすめられてきた。しかし、日本産のものについては分類学的検討や被害実態の把握すら十分になされず、知見が不足した状態にある。本研究は日本産マツノネクチタケの特徴を包括的に把握することを目的とし、標本収集と野外調査、屋内実験により、国内に分布するマツノネクチタケ属3種の分類学的位置づけ、トドマツ人工林でみつかったマツノネクチタケ被害の特徴、被害地における同菌個体群のジェネット分布と伝播法、および北海道で推奨されるマツノネクチタケ被害の軽減法を明らかにした。

日本および東アジアに産するマツノネクチタケ属3種（マツノネクチタケ、レンガタケ、南方系未同定種）について、分子系統解析と形態比較により分類学的位置づけを明らかにした。日本産マツノネクチタケは、マツノネクチタケ（広義）のうち比較的病原性が弱いとされる*H. parviporum*であったが、ヨーロッパのものとはやや異なる形態的特徴を有し、系統樹上では異なるサブクレードに属していた。従来*H. insurale*とみなされてきたレンガタケは形態的特徴が*H. insurale*タイプ標本と異なっており、形態および塩基配列が既知の種のいずれとも一致しなかったことから、新種*Heterobasidion orientale*として記載した。日本の南部と中国に分布する未同定種については新種*Heterobasidion ecrostosum*として記載し、和名をカラナシレンガタケとした。分子系統解析からは、本菌が国内産の他の2種よりもオーストラリア周辺に分布する*H. araucariae*と近縁であることが明らかとなった。

北海道東部にある68年生トドマツ人工林において激しい根株腐朽被害が発生したため、病原菌分離菌株のDNA解析と菌叢の形態観察を行い、腐朽被害の原因がマツノネクチタケであることを明らかにした。国内で発生した同菌の被害をDNA解析により確認したのは本研究が初めてである。30×35mのプロット内にあったトドマツ伐根57本のうち27本(47%)に根株腐朽被害が確認され、マツノネクチタケ被害はこれら27本のうち14本(52%)に発生していた。本菌によるトドマツの腐朽は、心材が黄色味を帯びた淡オレンジ色～淡褐色に腐朽し、材に菌糸が詰まった細長い空隙が発達して繊維状を呈するもので、腐朽部は根株だけにとどまらず樹幹上方へむかって拡大していた。被害が著しいトドマツでは樹幹内部が空洞となり、辺材部にまで腐朽が及んでいた。一方、被害地のトドマツは衰退せず、順調な肥大成長を続けていたことから、日本のマツノネクチタケはトドマツ生立木に対して強い腐朽力を持つ一方、枯死をもたらすような強い病原性は持たないことが示唆された。

3種類の手法（体細胞不和合性試験、RAPD解析、マイクロサテライト解析）を併用して、被害地におけるマツノネクチタケのジェネット分布とその遺伝的多様性を調査した。国内における同菌のジェネット分布調査は本研究が初めてである。68年生トドマツ人工林被害地に設定した60×100mのプロット内にあった被害木伐根33本各々から分離されたマツノネクチタケ33菌株は、それぞれ1～15本の被害木に感染した8個のジェネットに識別された。特定の1菌株からなる1ジェネットだけは遺伝的に他のものと大きく異なっており、3手法すべてで一致して識別された。しかし、残り32菌株は非常に近縁であり、手法により異なった識別結果が得られた。マツノネクチタケ（広義）でこれほど近縁な

ジェネット群が被害地から識別された事例はこれまで報告されていない。また、径が51 mおよび50 mに達した2個のジェネットは同菌のジェネットとしては世界最大であり、成長速度から推定した齢は100年以上とみなされた。ジェネットの特徴と観察された同菌の生態から、被害地のマツノネクチタケは主に根系の接触部を通じて栄養繁殖(菌糸成長)による感染拡大を行っていることが示唆された。被害地のマツノネクチタケは、もともと1個もしくは数個の子実体でつくられた担子胞子に由来しており、人工林が造成される以前の天然林だった頃にこの場所に定着した後、残された被害木伐根もしくは感染した生残木から人工林に引き継がれ、主に菌糸成長によって隣接木間を広がったものと考えられた。

マツノネクチタケによる宿主の衰退や枯死が起こらない日本では、同菌の被害を初期段階で見つけることが難しい。しかし、トドマツ被害木は特徴的な腐朽型を呈するので、トドマツ人工林が高齢級化し収穫が行われつつある現在が被害地を見つけるよい機会であると考えられる。被害が見つかった場合、海外で行われている孢子分散を対象とした防除は基本的に不必要で、そのかわり、栄養繁殖による伝播を断つことを目的とした施業が推奨される。例えば、徹底した皆伐、被害木伐根の除去、抵抗性樹種への樹種転換、広葉樹を交えた混交林化、低密度植栽などが適当であろう。日本のマツノネクチタケは子実体形成を行うことがまれで栄養繁殖に強く依存しているので、いったん林地から感染源をなくし、トドマツ同士の根系の接触機会を減らせば、その林分におけるマツノネクチタケ被害は確実に軽減されるものと考えられる。一方、現在の北海道では、森林資源の平準化や森林の持つ多面的な機能の発揮を目的として、長伐期化、択伐や小面積の孔状皆伐、複層林化などが広くすすめられている。しかし、これらの施業は、マツノネクチタケに感染した生立木を林内に長く残すこととなり、罹病木と健全木の接触機会が増えて次世代林への被害の引継ぎや林分内での感染拡大につながるおそれがあるので、同菌の被害地では避けるべきである。

キーワード：マツノネクチタケ, *Heterobasidion*属, 根株腐朽, トドマツ人工林, ジェネット

目次

第1章 序論	39
1-1 研究の意義と目的.....	39
1-2 従来の研究.....	39
1-2-1 世界のマツノネクチタケ属の分類と特徴.....	39
(1) マツノネクチタケ属の概要.....	39
(2) マツノネクチタケ（広義）について.....	40
(3) その他のマツノネクチタケ属菌.....	40
(4) 分子系統学的検討の背景.....	40
1-2-2 日本のマツノネクチタケ属菌.....	41
(1) 分類.....	41
(2) 被害.....	41
(3) 病原菌の同定手法.....	42
1-2-3 マツノネクチタケ（広義）の伝播機構とジェネット識別.....	42
1-3 研究の方向.....	42
第2章 日本産マツノネクチタケ属菌3種の分類学的検討	43
2-1 はじめに.....	43
2-2 分子系統学的検討.....	44
2-2-1 材料と方法.....	44
2-2-2 結果.....	47
2-2-3 考察.....	47
2-3 形態的特徴の検討および日本産3種の記載.....	50
2-3-1 材料と方法.....	50
2-3-2 結果.....	50
2-3-3 考察.....	60
第3章 トドマツ人工林で確認されたマツノネクチタケ被害	62
3-1 はじめに.....	62
3-2 材料と方法.....	63
3-2-1 調査地概況および現地調査.....	63
3-2-2 病原菌の分離、培養形態.....	64
3-2-3 DNA解析.....	64
3-3 結果.....	65
3-3-1 根株腐朽被害の程度と病徴.....	65
3-3-2 培養形態.....	66
3-3-3 DNA解析.....	66
3-4 考察.....	66
第4章 68年生トドマツ人工林におけるマツノネクチタケのジェネット分布と伝播法	68
4-1 はじめに.....	68
4-2 材料と方法.....	69
4-2-1 調査地概況および現地調査.....	69
4-2-2 マツノネクチタケの分離.....	69
4-2-3 マツノネクチタケのゲノタイプ識別.....	69
(1) 体細胞不和合性試験.....	69
(2) RAPD解析.....	70

(3) マイクロサテライト解析	70
4-3 結果	70
4-3-1 現地調査と分離	70
4-3-2 マツノネクチタケのゲノタイプの識別	71
(1) 体細胞不和合性試験	71
(2) RAPD解析	71
(3) マイクロサテライト解析	71
(4) ジェネット識別	73
4-4 考察	74
第5章 結論 —総合考察と推奨される防除法—	78
5-1 日本産マツノネクチタケ属菌3種の分類学的位置づけと新種の記載	78
5-2 トドマツ人工林で確認されたマツノネクチタケによる根株腐朽被害の特徴と病原菌の生態, 主要な伝播法	78
5-3 日本産マツノネクチタケの被害防除への提言	79
謝辞	79
付表	80
略号一覧	80
引用文献	81

第1章 序論

1-1 研究の意義と目的

北海道の林業の歴史においては、1900年代、かつての天然林資源を収穫するだけの林業から森林を育成する林業へ方向転換がなされた際に、森林病害が森づくりの大きな障害となった時期があった(伊藤, 1951; 五十嵐, 1968)。苗畑や新植造林地苗木が暗色雪腐病で壊滅的な打撃を受けたり、カラマツ先枯病の大発生(Yokota, 1966)やトドマツ枝枯病の蔓延(田中, 1984; 北海道林務部, 1986)が起こるたび、森林保護を担っていた先人達は手探りで被害実態の把握や病原菌の同定に励み、被害回避に向けて奮闘した(斉藤ほか, 1962a, 1962b; 五十嵐・高岡, 1963a, 1963b, 1963c, 1964a, 1964b, 1964c; 小口ほか, 1963, 1964; 五十嵐, 1964; 五十嵐ほか, 1964, 1965, 1967; 高岡・五十嵐, 1964; 高岡ほか, 1964; 小口, 1970; Cheng and Igarashi, 1988; Igarashi and Cheng, 1988; 程・五十嵐, 1990)。その後、以前のような大面積一斉造林や強引な外国産樹種の導入は行われなくなり、また、激害地での樹種転換のほか、各林分の条件にあった樹種選定が行われるようになって、当時のような森林病害の大流行はこしばらく発生していない。本州各地で林木の枯死被害をもたらし続けているマツ枯れ(マツ材線虫病)(前原, 2000; 東北林業試験研究機関連絡協議会森林保全部会, 2008; 中村, 2010)やナラ枯れ(ナラ類集団枯損)(伊藤・山田, 1998; 黒田, 2008)も道内では発生しておらず、今現在に限って言えば、北海道の森林は樹病面からみて小康状態にあるといえる。けれども、こうした大規模かつ人目につきやすい病害が発生していないその一方で、北海道の森林は外見上からは被害に気がつきにくい材質腐朽病に侵され続けているという現実がある(亀井, 1949, 1959; 亀井・網倉, 1953; 亀井・五十嵐, 1959; Igarashi and Takeuchi, 1985)。

材質腐朽病害は木材腐朽菌と呼ばれる菌群によって、セルロースやリグニンなど生立木木材の主要な構成成分が分解される現象である。被害を受けた材は強度が低下するため用材としては用いることができなくなり、パルプ材としての利用もしくは廃棄することとなる。パルプ材は、例えばトドマツ(*Abies sachalinensis* (F. Schmidt) Mast.)では用材の半値から3分の1程度の価格にしかならないため、腐朽被害が多発した経済林では収益の減少が著しい。また、腐朽被害を受けた林木は根系や樹幹の支持力が低下するため、台風など大風による風倒被害を受けやすくなる(今関・青島, 1955a; 今関, 1965)。そのため、森林の持つ木材生産機能を高め、長期間にわたり安定した森林経営を行うためには、腐朽病害のコントロールに貢献する研究が必要不可欠である。

北半球において、林木の根株腐朽病原菌として特に重要視され、各国の大学や研究機関において集中的な研究がなされているものに、マツノネクチタケ(広義)がある。マツノネ

クチタケ属(*Heterobasidion* Bref.)は主に針葉樹を宿主とする木材腐朽菌で、同属に含まれる数種はヨーロッパ各地や北米の森林におけるもっとも重要な樹木病原菌として知られている(Korhonen and Stenlid, 1998)。さらに近年、マツノネクチタケ(広義)は林業上の害菌としてだけではなく、菌類を対象とした先端研究のモデル生物としても重要視されている。マツノネクチタケ(広義)は、植物と病原菌の相互作用、いわゆる「宿主-寄生者相互作用」に関する世界共通の研究材料であり、また、この仲間数種を対象とした全ゲノムの解析も行われ(Stenlid *et al.*, 2008)、北米産の1種についてはインターネット上ですでに結果が公開されている(<http://genome.jgi-psf.org/Hetan2/Hetan2.home.html>)。一方、日本国内にはマツノネクチタケ属菌3種が分布し、北海道の天然林ではマツノネクチタケによる被害が著しいことが知られている(亀井・星, 1948; 今関・青島, 1955b; 徳田, 2010)。しかし、生態や防除に関する集中的な研究が進められてきた海外とは異なり、国産種については正確な種名など基礎的知見すら不足しており、これまで断片的な情報しか蓄積されてこなかった。国産のマツノネクチタケ属菌に関しては、分類学的検討、被害や生態的特徴の解明が進んでおらず、防除法が検討されていない。また、子実体標本や菌株および塩基配列情報の収集・蓄積など各方面からの研究を進めるうえで不可欠な材料も圧倒的に不足している。

マツノネクチタケ属菌はアジアに多く、最近行われた分子系統解析からはマツノネクチタケ(広義)がローラシア大陸旧北区に起源をもつことが示唆された(Dalman *et al.*, 2010)。ユーラシア大陸と北米大陸の間に位置し、しかも狭い国土にマツノネクチタケ属菌が3種も分布する日本は同属菌の進化的背景を探るうえで興味深い存在である。しかし、各国が横断的な研究を進めるなか、日本およびアジアからの同属菌に関する情報発信が極めて少なく(Ota *et al.*, 2006; Tokuda *et al.*, 2005, 2007, 2008, 2009, 2011)、国際的な研究推進の大きな障害となっている。

そこで本研究は、まず、日本産マツノネクチタケ属3種の分類学的位置づけを形態的特徴および分子系統解析から明らかにしたのち被害地での調査を行い、日本産マツノネクチタケの分類・被害・生態および被害地における伝播法を包括的に把握し基礎的知見を蓄積したうえで、北海道のトドマツ林で推奨されるマツノネクチタケ被害の軽減法を提案することを目的とする。

1-2 従来の研究

1-2-1 世界のマツノネクチタケ属の分類と特徴

(1) マツノネクチタケ属の概要

ミヤマトンビマイ科マツノネクチタケ属(*Heterobasidion* Bref.)は、半背着性~無柄の子実体、デキストロノイドの骨格菌糸、クランプコネクションをもたない生殖菌糸、微細な

突起をもちわずかに粗面を呈する担子胞子, *Spiniger* Stalpers 属菌としての無性世代を有するという特徴を持つ (Gilbertson and Ryvarde, 1986; Buchanan, 1988)。本属のタイプ種である *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. を含むマツノネクチタケ (広義): *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. s.l. は, 針葉樹を中心とした林木に根株腐朽被害を引き起こし, 北半球におけるもっとも重要な樹木病原菌とみなされている (Hodges, 1969; Korhonen and Stenlid, 1998)。この仲間はフィンランド中央部から北アフリカ, 中央アメリカにまで及ぶ亜寒帯から暖温帯にかけての広い分布域をもち (Korhonen *et al.*, 1998a), ヨーロッパや北米では根株腐朽被害を引き起こすほか, しばしば実生や若齢木, さらに壮齢以上の樹木をも枯死させるので (Greig and Low, 1975; Korhonen, 1978; Greig *et al.*, 2001), 経済林における深刻な経済的損失の原因となっている (Burdekin, 1972; Woodward *et al.*, 1998; Asiegbu *et al.*, 2005)。

(2) マツノネクチタケ (広義) について

種複合体 (species complex) であるマツノネクチタケ (広義): *Heterobasidion annosum* s.l. は 5 つの近縁なグループに分けることができ, それぞれのグループは強弱の差があるものの基本的に互いに交配しない。各グループはそれぞれの宿主選択性と分布域に基づいて分類されており, (i) ヨーロッパマツ (pine) グループ (Eur-Pグループ), (ii) 北米マツ (pine) グループ (NAm-Pグループ), (iii) ヨーロッパトウヒ (spruce) グループ (Eur-Sグループ), (iv) ヨーロッパモミ (fir) グループ (Eur-Fグループ), (v) 北米トウヒ (spruce) グループ (NAm-Sグループ) に分かれている (Korhonen, 1978; Capretti *et al.*, 1990; Chase and Ullrich, 1990; Stenlid and Karlsson, 1991; Korhonen *et al.*, 2003)。近年, これらマツノネクチタケ (広義) の各グループに対して形態比較および分子系統解析による検討が進められた結果, 各々について種としての記載がなされ, ヨーロッパに産するマツノネクチタケ (広義) は 3 種: *H. annosum* s.s. (Eur-Pグループ), *H. parviporum* Niemelä & Korhonen (Eur-Sグループ), *H. abietinum* Niemelä & Korhonen (Eur-Fグループ) に (Niemelä and Korhonen, 1998), 北米のものは 2 種: *H. irregulare* Otrosina & Garbelotto (NAm-Pグループ), *H. occidentale* (NAm-Sグループ) Otrosina & Garbelotto (Otrosina and Garbelotto, 2010) に分類された。

H. annosum s.s. はヨーロッパアカマツ (*Pinus sylvestris* L.) に強い宿主選択性をもち (Korhonen and Stenlid, 1998), あらゆる林齢のヨーロッパアカマツ林で枯死被害を引き起こす (Bendz-Hellgren *et al.*, 1998)。さらに本菌はさまざまな針葉樹および広葉樹にネクrosisを起こし (Daniel *et al.*, 1998; Krokene *et al.*, 2001; Johansson *et al.*, 2004; Asiegbu *et al.*, 2005; Bodles *et al.*, 2007), ヨーロッパアカマツ以外の多くの針葉樹や広葉樹へも枯死被害をもたらす。また, 同じくマツ属を主な宿主とする *H. irregulare* も, アメリカ合衆国西部~南東部

にかけてのマツ類人工林の重要な病原菌である。一方, トウヒ属を主な宿主とする *H. parviporum* は, ヨーロッパからアジアにかけて広い地域に分布する (Korhonen *et al.*, 1998a; Dai *et al.*, 2003, 2006)。宿主樹種が多い *H. annosum* s.s. とは対照的に, ヨーロッパにおける *H. parviporum* の宿主選択性はヨーロッパトウヒ (*Picea abies* (L.) Karst.) にかなり限定されている。*H. parviporum* はスカンジナビア半島およびヨーロッパ中央部ではヨーロッパトウヒの重要な病原菌であり, ヨーロッパトウヒ自生地では普通種とされる。しかし, ヨーロッパの大部分の地域では, この菌はヨーロッパトウヒ以外の自生種の枯死被害を起こさない (Korhonen, 1978)。北欧諸国で *H. parviporum* が枯死させるのは, ヨーロッパトウヒの苗木と若齢木に限られる (Bendz-Hellgren *et al.*, 1998)。ヨーロッパトウヒを別にすると, *H. parviporum* はウラル地方でシベリアモミ (*Abies sibirica* Ledeb.) を枯死させることが知られている (Korhonen *et al.*, 1997, 1998a)。ヨーロッパから報告された 3 番目の種 *H. abietinum* は南~中央ヨーロッパのモミ属自生地に分布し, ヨーロッパモミ (*Abies alba* Mill.) を主な宿主としているが, 他の樹種に感染することもある。なお, ヨーロッパ産の *H. parviporum* や *H. abietinum* とはやや対照的に, 北米産の *H. occidentale* は宿主に対しての高い選択性をもっていない (Korhonen *et al.*, 1998a)。

(3) その他のマツノネクチタケ属菌

マツノネクチタケ属からは, マツノネクチタケ (広義) のほかに数種類の菌が東アジアとオーストララシアから報告されている。*Heterobasidion araucariae* P.K. Buchanan はオーストララシアから唯一報告されているマツノネクチタケ属菌で, 枯死木上に発生する (Buchanan, 1988)。フィリピン産のタイプ標本 (Murrill, 1908) をもつレンガタケ (*Heterobasidion insulare* (Murrill) Ryvarde) は主に東アジアに分布し, 腐生性とされている。交配試験とDNA解析からは, レンガタケと呼ばれているものは数種が混ざった種複合体であることが明らかとなっている (Dai *et al.*, 2002)。このほか, 東南アジアから *H. arbitrium* (Hattori, 2001), 中国南部から *H. australe* (Dai and Korhonen, 2009), チベットから大型の担子胞子とシスチジオールをもつ *H. linzhiense* (Dai *et al.*, 2007b) が報告されている。

(4) 分子系統学的検討の背景

マツノネクチタケ属菌に関する分子系統学検討はこれまでたびたび行われており, 同属菌の核のrDNAのITS領域およびIGS領域 (Harrington *et al.*, 1998a), ベルオキシダーゼ遺伝子 (Maijala *et al.*, 2003), ラッカーゼ遺伝子 (Asiegbu *et al.*, 2004) における塩基配列を調べた研究などから, 同属菌の分子系統の概要が得られている。*H. araucariae* とレンガタケは, マツノネクチタケ (広義) とは明らかに区別される (Asiegbu *et*

al., 2004; Maijala et al., 2003; Harrington et al., 1998b)。Harrington et al. (1998b) が行ったマツノネクチタケ (広義) のITS, IGS領域を対象にした分子系統解析からは、マツノネクチタケ (広義) には3つの主要な系統: (i) Eur-Pクレード (*H. annosum* s.s.), (ii) NAm-Pクレード, (iii) “モミ型” クレード (NAm-SグループとEur-S/Fグループを含む), があることが明らかとなった。日本産3菌株を含むアジア産菌株は “モミ型” クレードに含まれ、そのなかで弱く支持されたサブクレードを形成した。マンガンペルオキシダーゼアミノ酸の塩基配列解析では、ヨーロッパ, アジア, アメリカ産のマツノネクチタケ (広義) がそれぞれ不明瞭ながら区別された (Maijala et al., 2003)。アイソザイム解析とRAPD解析からは、Eur-S/FグループとNAm-Sグループが遺伝的に隔離されていることが示された (Karlsson and Stenlid, 1991; Otrrosina et al., 1993; La Porta et al., 1997; Garbelotto et al., 1998)。5つの遺伝子領域の塩基配列を解析した結果からは、*H. parviporum* (Eur-S-グループ), *H. abietinum* (Eur-Fグループ), NAm-Sグループが各々独立した3クレードにわかれており、また、日本産マツノネクチタケが*H. parviporum* と近縁であることが明らかとなった (Johannesson and Stenlid, 2003)。しかし、過去になされた研究において供試された日本産の菌株はわずかであり、それらのほとんどが子実体から分離されたものではなく腐朽材由来のものである (Harrington et al., 1998b; Johannesson and Stenlid, 2003; Maijala et al., 2003)。また、これまでに子実体の形態および培養菌叢の形態が記録された日本産の菌株で、分子系統解析に供試可能なものは残されていない。よって、日本産マツノネクチタケについては新たに子実体由来の菌株を用いた分子系統解析を行うとともに、あわせて子実体形態および培養菌叢形態の観察を行い、相互に照合できる形でそれぞれの結果を公表する必要がある。

1-2-2 日本のマツノネクチタケ属菌

(1) 分類

東アジアでは、数種のマツノネクチタケ (広義) およびレンガタケの種複合体が中国と日本の広い地域から記録されており (Teng, 1964; Dai and Korhonen, 1999; Dai et al., 2003, 2006, 2007a), 日本国内からはマツノネクチタケ (*H. annosum* s.l.) とレンガタケ (*H. insulare*) の2種がマツノネクチタケ属菌として報告されている (伊藤, 1955; Núñez and Ryvarde, 2001)。しかし、これら2種が国内でみづかり名前がつけられたのは20世紀初頭で、当時はマツノネクチタケおよびレンガタケが種複合体であることが明らかになっていなかった。中国のマツノネクチタケ (広義) についてはヨーロッパから報告された*H. parviporum* と同一の種であることがDai et al. (2006) により指摘されたが、日本産のマツノネクチタケがマツノネクチタケ (広義) のいずれにあたるのかについては十分な検討がなされていない。また、中国に産するレンガタケの種複合

体が標本の検討と交配試験により3つの交配不可能なグループに分けられたとき、*H. insulare* として日本と中国で広く知られてきた種はレンガタケ種複合体のうち “Nグループ” に分類された (Dai et al., 2002)。しかし、日本および中国の広い地域から記録されて*H. insulare* とみなされているこの菌の分布域は亜寒帯から暖温帯であり、フィリピン産のタイプ標本 (*Trametes insularis* Murrill (= *H. insulare*)) の分布域すなわち熱帯と一致せず、本菌がタイプ標本と同一種であるか否かについて疑問が生じている。よって、日本産マツノネクチタケおよびレンガタケの分類学的位置づけに関しては、分子系統学的解析およびタイプ標本を含めた海外標本との形態比較両方による再検討が必要である。さらに日本では、未同定のマツノネクチタケ属菌 (以下、*Heterobasidion* sp. と呼ぶ) が本州温帯と南西諸島の亜熱帯地域で記録されている。日本産の標本と中国産の標本を比較した結果、この未同定種がDai et al. (2002) が報告したレンガタケ種複合体 “Tグループ” と同一であることがわかったが、正式な名称はいまだつけられていない。この未同定種 *Heterobasidion* sp. は傘表面の殻皮を欠いており、既知のマツノネクチタケ属菌とは形態的に明らかに区別され、新種記載および分子系統解析上の報告が望まれる。

(2) 被害

国内におけるマツノネクチタケの分布は、北海道と本州の亜高山帯に限定されている (伊藤, 1955; 小野・横田, 1959; 徳田, 2010, 徳田・小野寺, 2011)。本菌の主な宿主は、北海道ではトドマツとアカエゾマツ (*Picea glehnii* (F. Schmidt) Mast.) (亀井・星, 1948; Yokota, 1956), 本州中部ではオオシラビソ (*Abies mariesii* Mast.) とシラビソ (*Abies veitchii* Lindl.) である (青島, 1952)。日本のマツノネクチタケは針葉樹生立木に根株腐朽被害をもたらす木材腐朽菌とされる (伊藤, 1955; 小野・横田, 1959; 五十嵐, 1993, 2006)。日本では亀井・星 (1948) が、北海道の天然林でマツノネクチタケによる被害をみつけ、国内初の被害報告を行った。このときは、トドマツの約50%, アカエゾマツの約20%がマツノネクチタケにより被害を受けていたと報告されている。それ以降、北海道の天然林におけるトドマツ, アカエゾマツ, エゾマツ (*Picea jezoensis* (Siebold et Zucc.) Carrière) について、マツノネクチタケによる被害が報告されている (今関・青島, 1955b; 佐々木・横田, 1955; 青島ほか, 1977; 徳田・小野寺, 2011)。本菌による深刻な被害は主に老齢過熟木で発生しているが、被圧された若い木が被害を受けることもある (亀井・星, 1948; 佐々木・横田, 1956)。ここ100年の間、北海道の天然林皆伐跡地には大面積のトドマツ人工林が造成されてきた。トドマツ人工林におけるマツノネクチタケ被害に関する唯一の報告は、佐々木ほか (1983) による北海道の25年生林分についてのものである。ここでは、伐根1690本のうち37本 (2.2%) が

腐朽しており、腐朽の病徴と伐根から分離した菌株の培養形態によって病原菌の同定が行われた。一方、本州からのマツノネクチタケ被害の報告は少ないが、標高2000 m 付近の湿地にある森林でオオシラビソとシラビソが本菌による被害を受けていたことを、青島 (1952) が報告している。横田 (1960) も、本州の亜高山帯の天然林に生育するツガ (*Tsuga sieboldii* Carrière) とコメツガ (*Tsuga diversifolia* (Maxim.) Mast.) がマツノネクチタケの被害を受けていることを報告しているが、北海道の天然林におけるものほど激しい被害ではなかったようである。

一方、北海道から九州まで日本全域に広く分布するレンガタケは、日本では針葉樹枯死木の樹幹や根株に発生する腐生性の木材腐朽菌とされている (今関・青島, 1955b; 伊藤, 1955; Stalpers, 1974, 1978; 今関・本郷, 1989; Núñez and Ryvarde, 2001)。レンガタケの子実体は、針葉樹の人工林にもしばしば発生するが、本菌の病原性については調べられていない。

(3) 病原菌の同定手法

根株腐朽菌の子実体は発生しにくく直接確認できないことが多いので、腐朽型や腐朽材から分離した菌株の培養形態の観察によって病原菌の同定を行うことが多い。日本では、被害が激しい林分であってもめったにマツノネクチタケの子実体は形成されない (亀井・星, 1948; 青島, 1952; 佐々木・横田, 1956)。それゆえ、国内では、黄褐色～赤褐色を呈し繊維状をあらわす腐朽型、もしくは腐朽型および培養菌株が示す oedocephaloid 型分生子柄形成の確認によってのみ、根株腐朽被害を引き起こしている病原菌がマツノネクチタケであると判断されてきた (亀井・星, 1948; 亀井, 1953; 小野, 1954; 今関・青島, 1955b; 佐々木・横田, 1956; Yokota, 1956; 横田, 1957, 1959; 青島ほか, 1977; 佐々木ほか, 1983)。しかし、マツノネクチタケの培養時に示される形態的特徴はレンガタケのそれとよく似ているので、分離菌株の培養形態による識別だけでは両者を間違える可能性がある (亀井・星, 1948; Stalpers, 1974)。一方、近年は分子系統学的手法を用いた菌類の分類が数多く実施され、マツノネクチタケ属においても、核のrDNAのITS領域を解析対象としたマツノネクチタケ (広義) -レンガタケ間の系統解析 (Harrington *et al.*, 1998b)、いくつかのタンパク質翻訳領域を対象としたマツノネクチタケ (広義) 間の系統解析 (Johannesson and Stenlid, 2003) などが報告されている。国内ではこれまで、分子系統学的手法を応用したマツノネクチタケ被害の確認はなされてこなかったが、より確実な病原菌の同定を行うためには病徴および分離菌株菌叢の観察とあわせてDNA解析を行う必要がある。

1-2-3 マツノネクチタケ (広義) の伝播機構とジェネット識別

マツノネクチタケ (広義) の伝播機構については、ヨーロ

ッパおよび北米で詳しく調べられている。通常、マツノネクチタケ (広義) は大気中を浮遊する担子胞子によって拡散し、間伐によって生じた新鮮な伐根の伐採面に付着したのち、発芽して菌糸を伸ばす (Rishbeth, 1951, 1957; Sánchez *et al.*, 2007)。木部に定着したマツノネクチタケ (広義) は宿主の水平根へと広がり、樹木の根同士の接触を通じて隣の木へ伝播していく (Stenlid, 1985; Morrison and Redfern, 1994; Stenlid and Redfern, 1998; Garbelotto *et al.*, 1999)。菌類のジェネットの解析は、根株腐朽菌の伝播を調査するのに効果的な手法であり、その実施により森林施業による病害のコントロールにとって有益な情報をもたらすことが期待できる。マツノネクチタケ (広義) のジェネットは、体細胞不適合性試験 (somatic incompatibility test) で簡単かつ効果的に識別することができるので (Stenlid, 1985, 1987; Piri *et al.*, 1990; Swedjemark and Stenlid, 1993, 2001; Piri, 1996; Vasiliauskas and Stenlid, 1998; Piri and Korhonen, 2001, 2007, 2008)、ナラタケ類のジェネット調査で用いられるRAPD解析 (Guillaumin *et al.*, 1996; Dettman and Kamp, 2001) などといった分子生物学的手法は、同菌のジェネット識別には不要であるとされる (Stenlid, 1985)。一方、近年、木材腐朽菌の遺伝的特徴とジェネット構造を調査するためのもっとも強力な分子生物学的手法として、マイクロサテライト解析やミニサテライト解析が行われている (Johannesson and Stenlid, 2004; Worrall *et al.*, 2004; Dart *et al.*, 2007; Zamponi *et al.*, 2007)。

海外では上述したように胞子分散によるマツノネクチタケ (広義) の感染拡大が一般的なので、これを妨げることを目的とした防除法がいくつも開発され、すでに実用化されている (Holdenrieder and Greig, 1998; Korhonen *et al.*, 1998b; Pratt, 1998; Pratt *et al.*, 1998a, 1998b; Lehtijärvi *et al.*, 2010)。けれども、日本のマツノネクチタケの生態および伝播経路に関する情報はこれまでほとんど得られておらず、海外で行われている防除法の適用を図る前に国内における伝播法を明らかにし、応用可能か否かを検討する必要がある。特にトドマツは北海道の天然林における優占種のひとつであるとともに人工林樹種としても大きな割合を占めており、トドマツ林の管理は経済面および環境面の両方で北海道の林業にとって重要なので、トドマツ林における根株腐朽菌の伝播法を把握する意義は大きい。

1-3 研究の方向

樹木病原菌についての理解を深め被害軽減に向けた防除対策を森林施業の現場で実施するためには、まず、対象となる病原菌が何であるのかを明らかにするとともに、十分な証拠に基づいた具体的な被害の確認と記録を続けていく必要がある。また、マツノネクチタケ (広義) のようにすでに海外でその菌に対する防除法が確立されている場合であっても、それをすぐ適用できるわけではない。病原菌の生態が地域個体

群間で異なれば、既存の手法では伝染環を断つことができない可能性があるからである。具体的な被害対策手段を提案するためには、問題が起こっている地域で実際に、被害実態、病原菌の生態的特徴と伝染環、宿主に対する病原性などを把握する必要がある。マツノネクチャタケ（広義）については世界中で先進的な研究が行われているが、被害が顕在化しない日本では欧米諸国に比べて情報の蓄積と公開が遅れている。針葉樹人工林の高齢級化が進み、根株腐朽被害の拡大が懸念される北海道では、基礎的情報の蓄積から防除法開発にいたる各研究項目を包括的に押しすすめ、迅速に公開していくことが望まれる。

よって、本研究は日本産マツノネクチャタケの分類学的位置づけ・被害・生態および伝播法を明らかにし、同菌に関する基礎的知見の蓄積と北海道のトドマツ林で推奨される被害軽減法を提案することを目的とし、以下の各章によりすすめた。

日本産マツノネクチャタケ属菌3種の分類学的検討：

本章では、子実体由来の菌株を用いた分子系統学的解析と子実体標本および培養菌叢の形態観察を行い、これまでに各国から報告されている同属菌各種との比較検討から、日本産マツノネクチャタケ属菌3種、すなわち、マツノネクチャタケ (*H. annosum* s.l.)、レンガタケ (*H. insulare*)、未同定種 (*Heterobasidion* sp.) の分類学的位置付けの解明を目指した。(第2章)。

トドマツ人工林で確認されたマツノネクチャタケ被害：

道東地方の68年生トドマツ人工林でみつかった激しい根株腐朽被害について、(i) 被害程度と病徴の把握、(ii) 分離した病原菌の培養形態の観察および Johannesson and Stenlid (2003) の手法に従った分子系統解析を行い、被害実態の把握と病原菌の同定を試みた (第3章)。

68年生トドマツ人工林におけるマツノネクチャタケのジェネット分布と伝播法：

マツノネクチャタケによる激しい根株腐朽被害がみつかったトドマツ人工林から分離された同菌のジェネット識別を、体細胞不和合性試験、RAPD解析、マイクロサテライト解析により試みた。さらに、明らかとなったマツノネクチャタケジェネットの空間分布とその遺伝的多様性から病原菌の主要な伝播法を推定した (第4章)。

結論 - 総合考察と推奨される防除法 -：

研究全体を総括するとともに、本研究によりヨーロッパのものとは異なる生態的特徴を持つことが明らかとなった日本産マツノネクチャタケについて、被害地における病原菌の伝播を遮断することを目的とした森林施業による被害回避法を提案した (第5章)。

なお、本文中では、国内に自生する樹木および和名が通用している外国産樹木については樹種名を和名で記した。樹木の和名および学名は、米倉浩司・梶田忠 (2003-) 「BG Plants 和名-学名インデックス」(YList), http://bean.bio.chiba-u.jp/bgplants/ylist_main.html (2011年10月1日) にしたがった (付表参照)。菌類の学名については「Index Fungorum」, <http://www.indexfungorum.org/Index.htm#TopOfPage> (2011年9月8日)、和名についてはマツノネクチャタケ属菌を除き今関六也・本郷次雄 (1989) 「原色日本新菌類図鑑 (II)」 にしたがった。国内産マツノネクチャタケ属菌の和名は、徳田佐和子 (2010) 「針葉樹の根株心腐病菌マツノネクチャタケと近縁種カラナシレンガタケ (新称) について。森林防疫 第680号」 にしたがった。

第2章 日本産マツノネクチャタケ属菌3種の分類学的検討

2-1 はじめに

ミヤマトンビマイ科マツノネクチャタケ属 (*Heterobasidion* Bref.) は、主に針葉樹を宿主とする木材腐朽菌である。本属の基準種である *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. を含むマツノネクチャタケ (広義) (*Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. s.l.) は、北半球に広い分布域 (北欧~ヨーロッパ~東アジアにいたるユーラシア大陸の広い範囲、日本、北アフリカ、北アメリカ大陸) をもち (Korhonen *et al.*, 1998a)、針葉樹を中心とした林木に深刻な根株腐朽被害もしくは枯死被害を引き起こす北半球でもっとも重要な樹木病原菌として知られている (Hodges, 1969; Korhonen and Stenlid, 1998)。

H. annosum s.l. は、初記載がなされた当時は単一種とみなされていたが (Fries, 1821)、後に宿主選択性と病原性、分布域が異なる複数の近縁なグループに分かれることが明らかとなった (Korhonen, 1978; Capretti *et al.*, 1990; Chase and Ullrich, 1990; Stenlid and Karlsson, 1991; Korhonen *et al.*, 2003)。近年、これらマツノネクチャタケ (広義) の各グループに対して形態比較および分子系統解析による検討が進められた結果、各々について種としての記載がなされ、ヨーロッパに産するマツノネクチャタケ (広義) は3種: *H. annosum* s.s. (Eur-Pineグループ)、*H. parviporum* Niemelä & Korhonen (Eur-Spruceグループ)、*H. abietinum* Niemelä & Korhonen (Eur-Firグループ) (Niemelä and Korhonen, 1998) に、北米のものは2種: *H. irregulare* Otrösina & Garbelotto (NAM-Pineグループ)、*H. occidentale* (NAM-Spruceグループ) Otrösina & Garbelotto (Otrösina and Garbelotto, 2010) に分類された。

マツノネクチャタケ属からはマツノネクチャタケ (広義) のほかに数種類の木材腐朽菌が東アジアとオーストララシアから報告されている。*Heterobasidion araucariae* P.K. Buchanan はオーストララシアから唯一報告されているマツノネクチャタケ属菌で、枯死木上に発生する (Buchanan, 1988)。フィリピン産の

タイプ標本(Murrill, 1908)をもつレンガタケ (*Heterobasidion insulare* (Murrill) Ryvardeen) は主に東アジアに分布し、腐生性とされている。このほか、東南アジアから *H. arbitrarium* (Hattori, 2001), 中国南部から *H. australe* (Dai and Korhonen, 2009), チベットから大型の担子胞子とシスチジオールをもつ *H. linzhiense* (Dai et al., 2007b) が報告されている。

一方、日本国内からは、マツノネクチタケ (*H. annosum* s.l.) とレンガタケ (*H. insulare*) の2種がマツノネクチタケ属菌として報告されている(伊藤, 1955; Núñez and Ryvardeen, 2001)。しかし、日本産のマツノネクチタケがマツノネクチタケ(広義)のいずれにあたるのかについては十分な検討がなされていない。また、*H. insulare* とみなされているレンガタケの国内における分布域は亜寒帯から暖温帯であり、フィリピン産のタイプ標本 (*Trametes insularis* Murrill (= *H. insulare*)) の分布域すなわち熱帯と一致せず、本菌がタイプ標本と同一種であるか否かについて疑問が生じている。よって、日本産マツノネクチタケおよびレンガタケの分類学的位置づけに関しては、分子系統学的解析およびタイプ標本を含めた海外標本との形態比較を統合した再検討が必要である。さらに日本では、未同定のマツノネクチタケ属菌 (*Heterobasidion* sp.) が本州温帯と南西諸島の亜熱帯地域から採集されており、この菌に対しての新種記載および分子系統解析上の報告が望まれる。

そこで本研究では、日本に分布するマツノネクチタケ属菌3種の分類学的位置づけを明らかにするために、国内に産する同属菌の新鮮な子実体および腐朽材の採集、およびそれらからの菌株の分離を行い、これらの材料に加えてタイプ標本を含めた既存の標本および菌株について形態観察と分子系統解析を行って、同属菌既知種との比較検討を行った。

2-2 分子系統学的検討

2-2-1 材料と方法

供試菌株とDNA抽出

使用した分離菌株を表-1に示す。DNA抽出は、液体MYG培地(2% (w/v) 麦芽抽出物, 0.2% (w/v) 酵母抽出物, 2% (w/v) グルコース)で1週間、暗黒下で培養した菌糸から行った。DNAは、DNeasy plant minikit (Qiagen, Chatsworth, CA, USA)を用いて抽出した。3遺伝子領域: elongation factor 1- α (ef), glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (gpd), heat shock protein (hsp) を遺伝子マーカーとして用いた。本研究で使用したオリゴヌクレオチドプライマーは、Johannesson and Stenlid (2003)により報告されたものである。さらに本研究では、Johannesson and Stenlid (2003)の実験で用いられたプライマー EF 1 f および EF 1 r では *H. araucariae* と *Heterobasidion* sp. の ef 遺伝子断片をうまく増幅することができなかったため、2種のプライマー (EF 1-526F, EF 1-1567R, <http://ocid.nacse.org/research/deephyphae/EF1primer>).

Pdf)を追加して使用した。PCR反応液(10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 μ M 各プライマー, 2.5 mM dNTP, Takara taq (0.5 U) (Takara, Tokyo, Japan))に抽出したDNA 10 ngを鋳型として添加し、総量 20 μ Lとした。Perkin-Elmer DNA thermal cycler (9800)またはBIO-RAD iCyclerを用いたPCR反応条件は、ef, gpd, hsp各領域に対し、最初に94°C・5分間変性処理を行った後、94°C・1分間(変性)、50-56°C・30秒間(アニーリング)、72°C・30秒間(伸長)の3行程を35サイクル、最後に72°C・7分間(伸長)とした。プライマー EF 1-526F および EF 1-1567R を用いた ef 領域増幅の反応条件は、94°C・5分間変性処理を行った後、94°C・1分間(変性)、60-50°C・30秒間(アニーリング)、72°C・30秒間(伸長)の3行程を10サイクル(このとき各サイクル毎に設定温度を1°C下げていった)、残り30サイクル、最後に72°C・7分間(伸長)とした。PCR産物の精製は、MicroSpin Columns と Sephacryl S-300 (AmershamBiotech, Little Chalfont, UK) またはアガロースゲル電気泳動と Mono Fas DNA Kit I (GL Science, Tokyo, Japan) を使用したバンドの切り出しにより行った。hsp遺伝子断片のPCR産物のいくつかについては、pGEM-easy ベクター(Promega)にクローン化し、各菌株につき最低8クローン以上をシーケンスした。すべてのシーケンスは、BigDye Terminator cycle sequencing FS Ready Reaction Kit および Applied Biosystems 3100 sequencer (Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を用いて両方向から行った。

データ解析

増幅された遺伝子断片から得られたDNAシーケンスデータは GenBank に登録した (AB255481-255570) (表-1)。ヨーロッパとアメリカの菌株のシーケンスデータは GenBank から取得した (表-2)。シーケンスは Clustal X (Jeanmougin et al., 1998) を用いて整理させた後、手動で編集した。得られたシーケンスアラインメントは、TreeBASE (<http://www.treebase.org/treebase/>) に登録した。登録番号は No. SN2197 である。分子系統解析には、疑わしいアラインメントを外し、確実なものを使用した。分子系統解析におけるアウトグループにはマツノネクチタケ属菌と近縁な菌のひとつとして知られる *Echinodontium tsugicola* (Henn. & Shirai) Imazeki (Binder and Hibbett, 2002) を選択した。アラインメントしたシーケンスデータの分子系統解析は PAUP version 4.0b10 (Swofford, 2001) を用いて距離法、節約法、最尤法で行った。距離法では、近隣結合法 (NJ法) を採用し、進化距離を HKY 85 モデルで計算した。最節約法 (MP法) による系統樹作成では発見的探索法による検索を行い、配列の付加順序が結果の系統樹の樹形に影響するのを最小限にするために、サンプルの付加順序をランダムにし、それを100回繰り返した。このとき、TBR 分枝交換の条件下とし、演算の設定を、

表-1. シークエンスに用いた菌株の菌株番号, 採集地, 宿主および塩基配列データのジェンバンク登録番号 (Ota *et al.*, 2006)
 Table 1. Isolate numbers, location of collection, hosts and accession numbers in GenBank for fungal isolates sequenced for use in this study
 (Ota *et al.*, 2006) contrasts.

Species	Isolate No.	MAFF No.	Location	GenBank accession numbers			
				gpd	hsp	ef	
<i>H. annosum</i>	WD1212 ¹	420756	Katashina, Gumma, Japan		<i>AB255509</i>		
				<i>AB255481</i>		<i>AB255540</i>	
	HF339 ²		Ashoro, Hokkaido, Japan	<i>AB255482</i>	<i>AB255510</i>	<i>AB255541</i>	
	HF345 ²		Ashoro, Hokkaido, Japan	<i>AB255483</i>	<i>AB255511</i>	<i>AB255542</i>	
	HF401	420761	Ashoro, Hokkaido, Japan	<i>AB255484</i>	<i>AB255512</i>	<i>AB255543</i>	
	HF403	420762	Ashoro, Hokkaido, Japan	<i>AB255485</i>	<i>AB255513</i>	<i>AB255544</i>	
	HF407	420763	Ashoro, Hokkaido, Japan	<i>AB255486</i>	<i>AB255514</i>	<i>AB255545</i>	
	HF413	420764	Ashoro, Hokkaido, Japan	<i>AB255487</i>	<i>AB255515</i>	<i>AB255546</i>	
	HF419	420465	Akan, Hokkaido, Japan	<i>AB255488</i>	<i>AB255516</i>	<i>AB255547</i>	
	HF421	420766	Akan, Hokkaido, Japan	<i>AB255489</i>	<i>AB255517</i>	<i>AB255571</i>	
	HF424	420767	Akan, Hokkaido, Japan	<i>AB255567</i>	<i>AB255522</i>	<i>AB255572</i>	
	HF431	420768	Akan, Hokkaido, Japan	<i>AB255490</i>	<i>AB255518</i>	<i>AB255573</i>	
	HF594S1 ²		Shikaoui, Hokkaido, Japan	<i>AB255491</i>	<i>AB255519</i>	<i>AB255574</i>	
	HF567S1 ²		Ashoro, Hokkaido, Japan	<i>AB255492</i>	<i>AB255520</i>	<i>AB255575</i>	
	<i>H. insulare</i>	WD142		Iwaki, Fukushima, Japan	<i>AB255493</i>	<i>AB255521</i>	<i>AB255576</i>
WD651			Takatsuki, Osaka, Japan	<i>AB255494</i>	<i>AB255523</i>	<i>AB255547</i>	
WD825			Hahajima, Ogasawara, Tokyo, Japan	<i>AB255495</i>	<i>AB255524</i>	<i>AB255548</i>	
				<i>AB255495</i>	<i>AB255525</i>	<i>AB255549</i>	
WD1981		420757	Ochi, Kochi, Japan	<i>AB255496</i>	<i>AB255526</i>	<i>AB255570</i>	
WD2154		420758	Sigaraki, Aichi, Japan	<i>AB255497</i>	<i>AB255527</i>	<i>AB255550</i>	
HF448		420772	Bibai, Hokkaido, Japan	<i>AB255498</i>	<i>AB255528</i>	<i>AB255551</i>	
HF449		420773	Mikasa, Hokkaido, Japan	<i>AB255499</i>	<i>AB255529</i>	<i>AB255552</i>	
Undetermined		WD1945	420759	Iriomote Is. Okinawa, Japan	<i>AB255500</i>	<i>AB255530</i>	<i>AB255553</i>
<i>Heterobasidion</i> sp.		WD2080	420760	Manazuru, Kanagawa, Japan	<i>AB255501</i>	<i>AB255531</i>	—
	WD2107		Motoakasaka, Minato-ku, Tokyo, Japan	<i>AB255502</i>	<i>AB255532</i>	<i>AB255554</i>	
<i>H. araucariae</i>	WD2220		Kunigami, Okinawa, Japan	<i>AB255503</i>	<i>AB255533</i>	<i>AB255555</i>	
	WD2221		Kunigami, Okinawa, Japan	<i>AB255504</i>	<i>AB255534</i>	—	
	ICMP9529		Trounson Kauri Park, Northland, New Zealand	<i>AB255505</i>	<i>AB255535</i>	<i>AB255556</i>	
	ICMP9533		Waipoua Forest, Northland, New Zealand	<i>AB255506</i>	<i>AB255536</i>	<i>AB255557</i>	
	ICMP9535		Fiji	<i>AB255507</i>	<i>AB255537</i>	—	
	ICMP9536		Auckland, New Zealand	<i>AB255508</i>	<i>AB255538</i>	—	
	ICMP9539		Imbil, Queensland, Australia	<i>AB255509</i>	<i>AB255539</i>	—	
	<i>Echinodontium tsugicola</i>	WD1215		Chichibu, Saitama, Japan	<i>AB255560</i>	<i>AB255562</i>	<i>AB255558</i>
WD1216			Kamikochi, Nagano, Japan	<i>AB255561</i>	<i>AB255563</i>	<i>AB255559</i>	

¹ Isolated from decayed wood.

² Isolated from a single spore.

All Japanese specimens except for WD1212 are deposited in the Herbarium of Forest Mycology, FFPRI.

All isolates listed here are deposited in FFPRI. The isolate with MAFF number are deposited in NIAS GeneBank.

MulTrees コマンド: on, MaxTrees 設定: 1000, zero length branches: collapse, gap-mode: newstateとした。すべての形質は等価に扱った。また、得られた系統樹の分岐の信頼性を評価するために、1,000回分岐のブートストラップ確率 (Felsenstein, 1985) を算出した。ブートストラップ確率が70%以上のクレードは、データにより強く支持されているとみなすことができる。塩基置換モデルの選択は、ModelTest

version 3.7を用いての階層的尤度比検定により行った (Posada and Crandall, 1998, 2005)。最尤法 (ML法) による系統樹の作成は、ModelTest の実行から得られたモデルのパラメータの値をPAUPに挿入し、発見的探索法によりTBR分枝交換の条件下で行った。各領域のデータを結合した解析を行う前には、PAUP var. 4.0b の partition homogeneity tests を行って、3領域のデータセットを結合できるかどうかを検討した。

表-2. ジェンバンクから塩基配列情報を得た菌株の菌株番号, 採集地および塩基配列データのジェンバンク登録番号 (Ota *et al.*, 2006)

Table 2. Isolate numbers, location of collection and accession numbers in GenBank for fungal isolates derived from GenBank for use in this study (Ota *et al.*, 2006)

Species	Isolate No.	Origin	DDBJ accession numbers			
			gpd	hsp	ef	
Eur S-group (<i>H. parviporum</i>)	FSE.3	Finland	AY273398	AY273427	AY273368	
	Br518c2	Sweden	AY273399	AY273428	AY273369	
	87.179c2	Norway	AY273400	AY273429	AY273370	
	95151	Russia	AY273401	AY273430	AY273371	
	95123	Russia	AY273402	AY273431	AY273372	
	95156	Russia	AY273403	AY273432	AY273373	
	OH2.2c3	Switzerland	AY273404	AY273433	AY273374	
	Fas1	Finland	AY273405	AY273434	AY273375	
	Fas16.1	Germany	AY273406	AY273435	AY273376	
	Fas13.3	Italy	AY273407	AY273436	AY273377	
	Fas11	Italy	AY273408	AY273437	AY273378	
	Fas6	Italy	AY273409	AY273438	AY273379	
	B1295	China	AY273422	AY273451	AY273392	
	B1314	China	AY273423	AY273452	AY273393	
	Eur F-group (<i>H. abietinum</i>)	OH2.8.c6	Switzerland	AY273410	AY273439	AY273380
		Faf8.5	Italy	AY273412	AY273441	AY273382
Faf4.6		Italy	AY273413	AY273442	AY273383	
Faf7.1		Italy	AY273415	AY273444	AY273385	
Faf5.2		Italy	AY273414	AY273443	AY273384	
NAm S-group	Tc122.11	USA	AY273417	AY273446	AY273387	
	Bc3.3	Canada	AY273418	AY273447	AY273388	
	Bc1.4	Canada	AY273419	AY273448	AY273389	
	ORE103	USA	AY273420	AY273449	AY273390	
	Faf10.2	USA	AY273416	AY273445	AY273386	
	B1142	Mexico	AY273421	AY273450	AY273391	
NAm P-group	P32.1	USA	AY273425	AY273455	AY273396	
Eur P-group (<i>H. annosum</i> s.s.)	P16.4	Sweden	AY273426	AY273456	AY273397	

表-3. *Heterobasidion*属菌株の塩基配列と分岐分類の統計情報 (Ota *et al.*, 2006)

Table 3. Statistics of the sequences and cladistics of *Heterobasidion* isolates (Ota *et al.*, 2006)

	gpd	hsp	ef	Combined data of gpd,
				hsp and ef
Sequence information				
Total number of taxa	57	57	52	52
Total number of alignable characters	440	444	347	1231
Total number of variable characters	63	68	70	201
Nt sites located in exons	337	388	177	902
Variable characters in exons	18	30	17	65
Number of informative characters	56	60	59	175
Tree information				
Number of most parsimonious trees	39	4	2	1
Tree length	85	89	106	283
Consistency index	0.6698	0.8595	0.8208	0.8269
Homoplasy index	0.3302	0.1461	0.1792	0.1731
Retention index	0.9496	0.9848	0.9624	0.9717
Rescaled consistency index	0.6360	0.8410	0.7899	0.8034

2-2-2 結果

いくつかの菌株における ef 遺伝子領域を除き、すべての領域においてDNAの順調な増幅とシーケンスがなされた。二核の日本産菌株 WD1212 では、hsp 遺伝子領域で2タイプのシーケンスが認められた。WD1212の hsp 遺伝子領域のシーケンスのある部位で、1対の塩基が欠け、その場所にヌクレオチド“a”が発生していた。他のすべての二核菌株と一核菌株ではhsp 遺伝子領域にひとつのハプロタイプしかもっていなかった。特定の1菌株 WD1212 から得られた2つのハプロタイプは hsp 解析のなかに取り入れ、系統樹の中ではそれぞれ“-a”、“-b”として表現した。解析対象とした各遺伝子領域におけるシーケンス情報は表-3のとおりである。すべての遺伝子座は、イントロンとタンパク質翻訳領域を有していた。また、いくつかの多型の部位が ef および gpd 遺伝子座の翻訳領域に存在したが、アミノ酸の変化はみられなかった。最尤系統推定のためにModelTestで選択されたもっともあてはまりのよいモデルは、gpd 領域と hsp 領域では GTR + G モデル、ef 領域では K80 (K2P) + G モデルだった。各遺伝子領域について作成した NJ 系統樹、MP 系統樹、ML 系統樹の全体の形は同じだった。アウトグループのシーケンスは、イングループのシーケンスから分岐していた。アウトグループとイングループの分岐およびイングループ内の分岐の位置は、イングループの樹形と分岐の配置それぞれへ与えるそれらの影響を検定し、決定した (Sanderson and Shaffer, 2002)。検定の結果が等しかったので、本研究ではアウトグループをはずした MP 系統樹を作成した。gpd, hsp, ef 遺伝子断片それぞれの情報に基づいて作成した3つの MP 系統樹からは、強く支持される5つのクレード: Eur-Fグループ (ブートストラップ値>95%), NAm-Sグループ (ブートストラップ値>74%), Eur-PグループおよびNAm-Pグループ (ブートストラップ>値75%), *Heterobasidion* sp. (ブートストラップ値>95%), *H. araucariae* (ブートストラップ値>95%) の存在が明らかになった (図-1 a-c)。レンガタケのクレードは、gpd 領域 (ブートストラップ値 93%) と ef 領域 (ブートストラップ値 100%) の系統樹ではそれぞれ強く支持されたが、hsp 領域 (ブートストラップ値 66%) から作成した系統樹ではやや弱く支持された。Eur-Sグループと日本産マツノネクチャケは同一のグループに属し、gpd 領域の系統樹 (ブートストラップ値 96%), hsp 領域の系統樹 (ブートストラップ値 95%) 両方で、強く支持されるひとつのクレードを形成していた。しかし、ef 領域の系統樹では、Eur-Sグループと日本産マツノネクチャケは分かれており、それぞれ別のクレード: Eur-Sグループは弱く支持されるクレード (ブートストラップ値 66%), 日本産マツノネクチャケは強く支持されるクレード (ブートストラップ値 92%), を形成した。hsp領域とef領域の系統樹 (図-1 b, c) では、*Heterobasidion* sp. と *H. araucariae* は強く支持される姉妹群 (ブートストラップ値>

96%) を形成した。partition homogeneity test では、gpd 領域と hsp 領域、gpd 領域と ef 領域の間で有意差はなかった (P値はそれぞれ0.07, 0.08)。しかし、hsp 領域、ef 領域、3領域の比較では、partition homogeneity test において有意差があった (P<0.01)。3 遺伝子領域の結合データから作成した系統樹においてEur-Sグループ、日本産マツノネクチャケがそれぞれ高いブートストラップ値で支持される単系統であることが示された点を除けば、3遺伝子領域の結合データから作成した系統樹と、gpd 領域と hsp 領域の塩基配列から作成した全体一致コンセンサス系統樹は同じだった (データは未発表)。マツノネクチャケ (広義) (Eur-Sグループ, NAm-Sグループ, 日本産マツノネクチャケ, Eur-Fグループ, Eur-Pグループ, NAm-Pグループの菌株) のデータを用いたpartition homogeneity tests では、3遺伝子領域のどの組み合わせにおいても矛盾が検出されず (P>0.01), 系統樹の形もすべての菌株を用いて作成した系統樹と一致した。それゆえ、本研究では、gpd, hsp, ef 各領域のデータを結合して解析した。gpd, hsp, ef 各領域のデータを結合して作成した MP系統樹 (図-1. d) からは、Eur-Sグループ、日本産マツノネクチャケ, Eur-Fグループ, レンガタケ, *Heterobasidion* sp., *H. araucariae*, Pグループ (Eur-Pグループ/NAm-Pグループ) が、それぞれ強く支持される独立したクレードに属することが明らかとなった。日本産マツノネクチャケは Eur-Sグループのクレードと同じグループに属していた (100%)。Eur-Sグループ、日本産マツノネクチャケ, NAm-Sグループはひとつの集団をなしており、Eur-Fグループに対する姉妹群をつくっていた (ブートストラップ値 83%)。*Heterobasidion* sp. と *H. araucariae* はひとつのグループをつくり、他のものとは明確に区別された (ブートストラップ値 100%)。Eur-PグループとNAm-Pグループはレンガタケ, *Heterobasidion* sp., *H. araucariae* と近縁で、これらで1系統のグループをなしていた。

2-2-3 考察

本研究で行った、3遺伝子領域 (gpd, hsp, ef) のデータセットに基づいた節約法 (MP法) による分子系統解析から、マツノネクチャケ属 (*Heterobasidion* 属) の分子系統学的関係と、日本産マツノネクチャケ属菌 3種すなわちマツノネクチャケ (*H. annosum* s.l.), レンガタケ (*H. insulare*), 未同定 *Heterobasidion* sp. が同属のなかで占める分子系統学的位置づけが明らかになった。3領域を結合したデータから作成した系統樹からは、日本産マツノネクチャケがマツノネクチャケ (広義) のうち Eur-Sグループ (*H. parviporum*) と非常に近縁であり、明らかな姉妹群を形成することが明らかとなった。また、日本産マツノネクチャケは、検討したいずれの解析結果においても、他の種との違いが強く支持された独立した単系統であるとはみなされなかった。よって本研究では、日本産マツノネクチャケはマツノネクチャケ (広義) のうちEur-Sグループ (*H.*

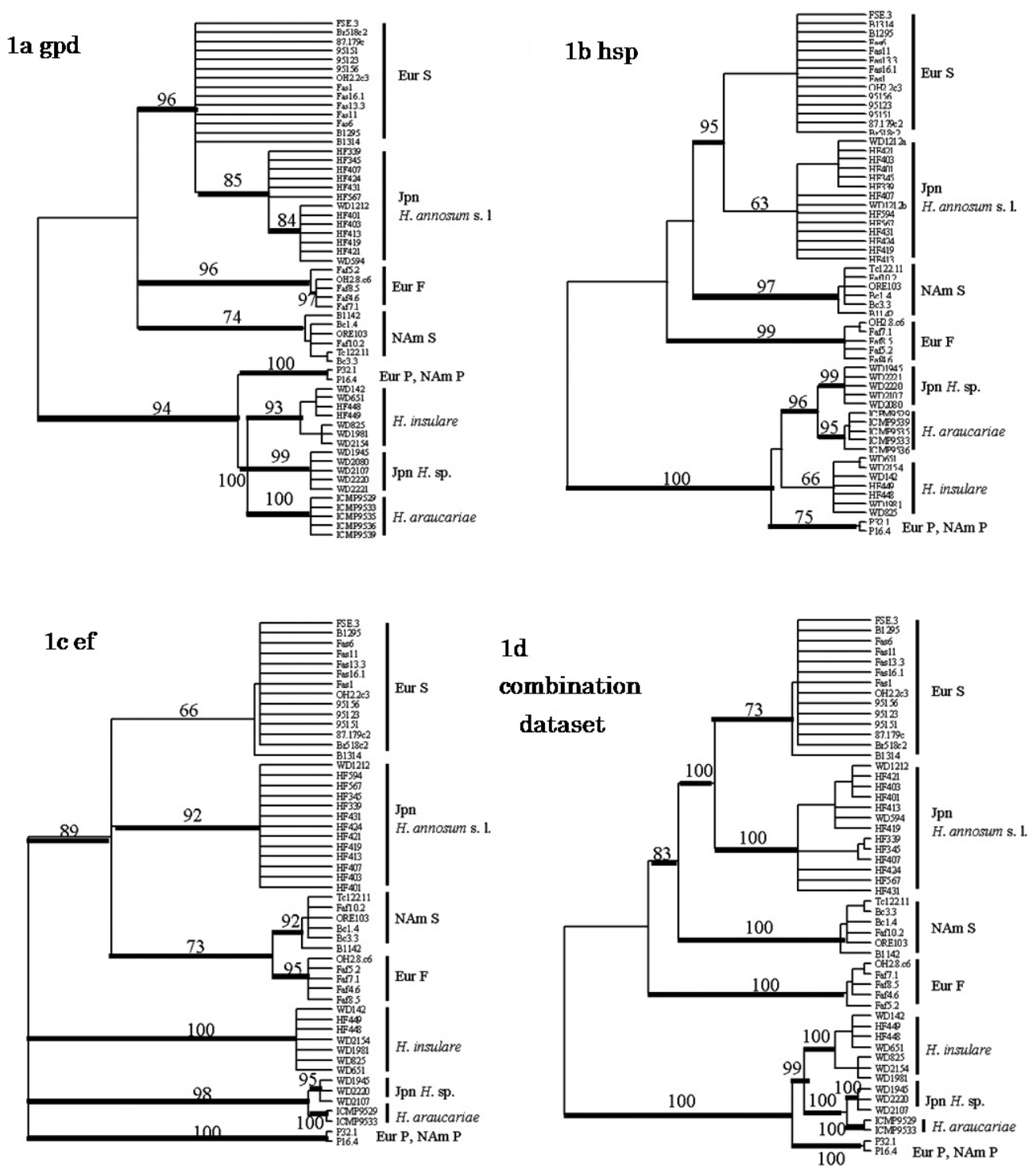


図-1 a-d. 最節約系統樹から作成したコンセンサス系統樹, 1a. glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (gpd); 1b. Heat shock protein (hsp); 1c. Elongation factor 1- α (ef); 1d. gpd, hsp, ef遺伝子領域の結合データ。ブートストラップ値>60 のとき, その値を各内部枝に示した。系統樹の情報は表-3 を参照。ヨーロッパ, 中国, 北アメリカ産菌株の塩基配列情報はジェンバンクから取得した。菌株の菌株番号とジェンバンク登録番号については表-1, 2 を参照 (Ota *et al.*, 2006)

Fig. 1a-d. 1a. Consensus tree of the most parsimonious trees for each of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; 1b. Heat shock protein; 1c. Elongation factor 1- α ; 1d. The combination dataset of gpd, hsp and ef gene loci. Bootstrap values >60 are indicated above the branches. Information about the trees is provided (Table 3). Data for European, Chinese and North American isolates were derived from GenBank. The isolate and accession numbers in GenBank are indicated (Tables 1 and 2) (Ota *et al.*, 2006).

parviporum) の亜集団であると結論づけた。

日本産マツノネクチタケは、Eur-Sグループに比べて分布域が狭いにもかかわらずシーケンスの多様性が明らかに高かった。このことは、日本産マツノネクチタケの起源がEur-Sグループよりも古い可能性があることを示唆している。中国に分布するトウヒ属樹木とヨーロッパに分布するヨーロッパトウヒの関係からは、ヨーロッパから産出するいくつかの化石と同様に、東アジアからヨーロッパへ高い山脈を越えて生物が移動していった移入ルートの存在が示されている (Farjon, 1990)。マツノネクチタケ (広義) のEur-Sグループは、その宿主樹木とともに東アジアからヨーロッパへ移入したといわれている (Korhonen *et al.*, 1997; Johannesson and Stenlid, 2003)。さらに、現存するヨーロッパトウヒは氷河期の限られたレフュージアから分散したもので、日本産系統に比べるとより最近、氷河作用に関係した遺伝的ボトルネックがEur-Sグループに発生したと考えられる (Vidaković, 1991)。興味深いことに、今回の解析では、ウラル地方と中国北東部から得られた菌株はEur-Sグループのクレードに含まれていた。ユーラシア大陸のマツノネクチタケと日本のマツノネクチタケの関係を明らかにするためには、より多くのアジア産菌株を用いて解析を行うべきである。

マツノネクチタケ (広義) のEur-Sグループがヨーロッパとシベリア西部で示すヨーロッパトウヒとシベリアモミに対する強い病原性は、東アジアでは弱まるようである (Dai *et al.*, 2003)。日本産マツノネクチタケは主に北海道と本州亜高山帯の原生的な天然林に分布する。国内では、本菌が若い造林地に発生したという報告はなされていない。一方、最近、北海道の68年生トドマツ人工林でマツノネクチタケによる根株腐朽被害が見つかった (Tokuda *et al.*, 2007)。この報告では、腐朽木が健全木と同程度の年輪成長をしていたこと、また、調査地内やその周辺で樹木衰退の兆候がみられなかったことが観察されている。Eur-Sグループがヨーロッパの宿主樹木に示す強い病原性に比べると、日本産マツノネクチタケの国内の宿主に対する病原性は弱いと考えられる。

検討したすべての系統樹、すなわち3遺伝子領域の塩基配列データ各々から作成した3つの系統樹と3領域結合データから作成した系統樹において、Eur-FグループとNAm-Sグループはそれぞれ強く支持される独立したクレードを形成していた。結合データの系統樹では、NAm-SグループはEur-Sグループ/日本産マツノネクチタケと姉妹群をつくっており、Eur-Fグループはこれらの3グループ同士が分かれる前にS系統とは分岐していた。葉緑体DNAシーケンスに基づいたモミ属樹木の系統解析 (Suyama *et al.*, 2000) から、モミ属における主要な3つの系統: (i) アジア系 (北米2種を含む)、(ii) 北アメリカ系 (オオシラビソを含む)、(iii) ヨーロッパ系、の存在が明らかになっている。一方、残念ながら、トウヒ属樹木は種どうしが近縁すぎるため、分子系統学的関係が解明

されていない。NAm-Sグループの分布域は、北米西部に自生するモミ属樹木の分布域と重なる (Korhonen and Stenlid, 1998)。日本産マツノネクチタケ、NAm-Sグループ、Eur-Fグループは、宿主である5モミ属樹木の進化的背景となんらかの関係をもつことが推測される。

本研究では、未同定の日本産 *Heterobasidion* sp. がオーストラリア、ニュージーランド周辺に産する *H. araucariae* と近縁であること、また、このグループがマツノネクチタケ属のなかで明確に分化した1系統をなしていることが明らかになった。一方、レンガタケは *H. araucariae* および *Heterobasidion* sp. と近縁であった。*Heterobasidion* sp. の子実体は、明らかな殻皮をもたない、もしくは殻皮が傘の基部にしかない点で、*H. araucariae* およびレンガタケの子実体とは形態的に区別される。*H. araucariae* は、褐色～赤褐色または暗褐色の殻皮を周辺部を除く傘表面にもつ (Buchanan, 1988)。レンガタケは、暗色で明瞭な殻皮を成熟した子実体表面にそなえる (Núñez and Ryvarden, 2001)。*Heterobasidion* sp. の子実体は、通常、日本の南方諸島のリュウキュウマツ (*Pinus luchuensis* Mayr) や本州の暖温帯に生育するアカマツ (*Pinus densiflora* Siebold et Zucc.) の立枯木または伐根上に発生する。*H. araucariae* の宿主はごく限られており、本菌はオーストラリア東部、ニュージーランド、パプアニューギニア、フィジーのナギモドキ属2種、ナンヨウスギ属2種、マツ属3種にしか発生しない (Buchanan, 1988)。レンガタケは、モミ属、マツ属、トウヒ属樹木の枯死木上に発生し、南アジアから東アジアにかけての広い地域 (ビマラヤ、ビルマ、フィリピン、中国、ロシア東部、日本) に分布する (Niemelä and Korhonen, 1998)。一方、東南アジアに位置するボルネオの山地からは、マツノネクチタケの仲間がナギモドキ属とマキ属樹木上に発生していたことが Corner (1989) により報告されている。彼の記載から推測すると、みつかったマツノネクチタケ属菌はおそらく厚いコルク質の肉と褐色の殻皮をもつ *H. araucariae* であったと考えられる。ボルネオの山中からはさらに、厚くコルク質の肉をもち、殻皮を欠く *Heterobasidion arbitrarium* (Corner) T. Hatt. も報告されている (Hattori, 2003)。これらアジア産マツノネクチタケ属菌と *H. araucariae*、レンガタケ、*Heterobasidion* sp. の関係についてはまだ調べられていない。本研究で検討した結合データの解析結果では、Eur-PグループおよびNAm-Pグループの菌株から構成されたクレードは、レンガタケ、*H. araucariae*、*Heterobasidion* sp. と同じグループに含まれていた。本研究で用いたEur-PグループおよびNAm-Pグループのデータはそれぞれ1菌株に由来するものであり、これらのグループどうしの関係とマツノネクチタケ (広義) P系統の分子系統学的位置づけの議論は制限されている。しかし、本研究で得られた結果は、Eur-PグループとNAm-Pグループは同じであり、かつ、マツノネクチタケ (広義) S、F系統よりもレンガタケや *H. araucariae* に近縁であることをnrDNAのITS領域お

よびIGS領域の塩基配列の比較により明らかにした関連研究と一致する (Harrington *et al.*, 1998b; Michelson and Korhonen, 1998)。IGS領域の塩基配列データに基づいた解析からは、Eur-PグループはNAm-Pグループよりもレンガタケに近縁であることが示されている (Harrington *et al.*, 1998b)。Harrington *et al.* (1998b) は、マツ属樹木に特化したマツノネクチタケ (広義) が分布しない地域 (i.e. アジア) ではレンガタケが普通種として分布しているようであり、ただし、マツノネクチタケ (広義) P系統とレンガタケの生態的ニッチは異なっているようだ、と述べている。この観察についてはレンガタケとマツノネクチタケ (広義) P系統の異所的種形成で説明が可能であろう。マツノネクチタケ属の進化的背景とこの属の種の概念を理解するためには、アジア産マツノネクチタケ属菌に関するさらなる知見が必要である。マツノネクチタケ属菌のアジア産個体群を扱う今後の研究が、同属の分類、分子系統、進化を明らかにするうえで望まれる。

2-3 形態的特徴の検討および日本産3種の記載

2-3-1 材料と方法

日本産および中国産のマツノネクチタケ属菌3種 (マツノネクチタケ (= 日本産 *H. annosum* s.l.), レンガタケ (= *H. insulare* とみなされている菌), カラナシレンガタケ (= 「2-2 分子系統学的検討」における未同定種 *Heterobasidion* sp.)) について、子実体乾燥標本を材料に形態観察を行った。加えて、数種のタイプ標本を含む海外産マツノネクチタケ属数種についても同様の形態観察を行った。肉眼的特徴の記載における標本の色はMunsell System (カラーアトラス, 1998) に、色名は日本園芸植物標準色票 (農林水産省 植物標準色票編集委員会, 1987) に従った。標本の光学顕微鏡観察は、Melzer液でマウントした徒手切片に対して行った (Largent *et al.*, 1977)。このとき、デキストリノイド反応の有無についても同時に観察した。担子胞子サイズの測定は、Melzer液中で行い、観察したマツノネクチタケ属各種における長径および短径の平均をそれぞれLおよびW、長径と短径の比をr、長径と短径の比の平均をRで表した。なお、ここで、 $n=x/y$ は、y個の標本から得られたx個の担子胞子を観察したことを表す。また、各胞子サイズの両端それぞれから5%に含まれる値をとるものについては、胞子サイズの変異の結果から除外し、最小値および最大値を括弧内に入れて記述した。本研究で材料とした日本産の標本は、つくば市にある (独) 森林総合研究所の菌類標本庫で保管されている (TFM)。観察標本を所蔵するその他の標本庫の略称は、Holmgren *et al.* (1990) による。なお、供試標本の採集地データの記載では、旧地名であっても標本ラベルに従いそのまま表示した。

培養菌叢の形態観察は、2%麦芽寒天平板培地 (MEA: 麦芽抽出物20 g (Kanto, Tokyo, Japan), 寒天20 g (Kanto, Tokyo, Japan), 精製水1000 ml) 上で培養した菌株について行った。

このとき、各菌株をシャーレ (内径80 mm) の縁近くに置床し、25℃暗黒下で培養した。6週間後、菌叢の形態を観察し、それぞれの菌株が呈する特徴のキーコードをNobles (1965) およびStalpers (1978) に基づき記載した。25℃で培養したときのコロニーの成長速度Krは、次式により求めた: $R_1 = R_0 + Kr(t_1 - t_0)$ (ここでR1, R0は、それぞれt1, t0時点におけるコロニーの直径)。分生子の観察とサイズ測定は、担子胞子のときと同様の方法で行った。細胞外酸化酵素活性は、Nobles (1958), Käärik (1965) に基づいて行った。コロニー成長の適温は、4, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 34, 37℃の各温度で培養したときの成長速度を上記の方法により算出し、決定した。このとき、マツノネクチタケ、レンガタケ、カラナシレンガタケそれぞれについて3, 4, 3菌株供試し、各組み合わせにつき5反復を測定した。

本研究で用いた菌株は、NIASジーンバンクもしくは森林総合研究所微生物生態研究室菌株庫、北海道立総合研究機構林業試験場微生物実験室菌株保管庫に保管されている。

2-3-2 結果

子実体の乾燥標本および培養菌株を用いた比較研究、もしくは、子実体乾燥標本の観察結果から、下記に挙げたマツノネクチタケ属7種について記載と図を添えて報告する。

Heterobasidion parviporum Niemelä & Korhonen, *Heterobasidion annosum*: biology, ecology impact and control: 31 (1998). 図-2, 3

'*Fomitopsis annosa*' (Fr.) P. Karst., auct. non Fries: Ito, *Mycological Flora of Japan* 2:302 (1955). '*Heterobasidion annosum*' (Fr.) Bref., auct. non Fries: Imazeki & Hongo, *Colored Illustrations of Mushrooms of Japan II*:168 (1989).

和名: マツノネクチタケ

子実体は多年生、半背着生、ときとして無柄もしくは背着生、通常単生、基質から容易に剥がれる。傘は半円形~不定形、隣同士のものが接し合うと融合して成長し大型となる、扁平~やや丸山形、長さ0.6-30 cm、幅0.6-10 cm、厚さ0.1-3 cm。傘表面は密綿毛有する、もしくは部分的にはほぼ平滑、密綿毛は長さ175 μm以下、環紋と環溝をそなえる、部分的に疣状~しわ状の起伏をもつ、いちじるしく粗面、灰茶色 (5 YR-4/4, 5/4, 10YR-4/4, 5/4) から暗褐色~暗灰褐色 (5 YR-2/2, 2/4, 3/1, 3/2, 3/4), またはほぼ黒色 (10YR-3/2)。傘の縁は鈍縁もしくは鋭縁、通常薄い、しばしば波打つ、中央部から同色、または生育中の周辺部は細い白色の帯で縁どられる (淡黄色, 5 Y-9/2)。管孔面はなめらか、はじめ黄白色 (5 Y-9/1) から淡黄色 (5 Y-9/2), 乾燥すると淡黄橙色 (10YR-9/4) から浅黄橙色 (10YR-8/4) を帯びる。管孔は円形、均一、1 mmあたり4-5 (-7) 個、直径100-220 μm。孔壁ははじめ厚く、のちに薄くなる、厚さ30-200 μm,

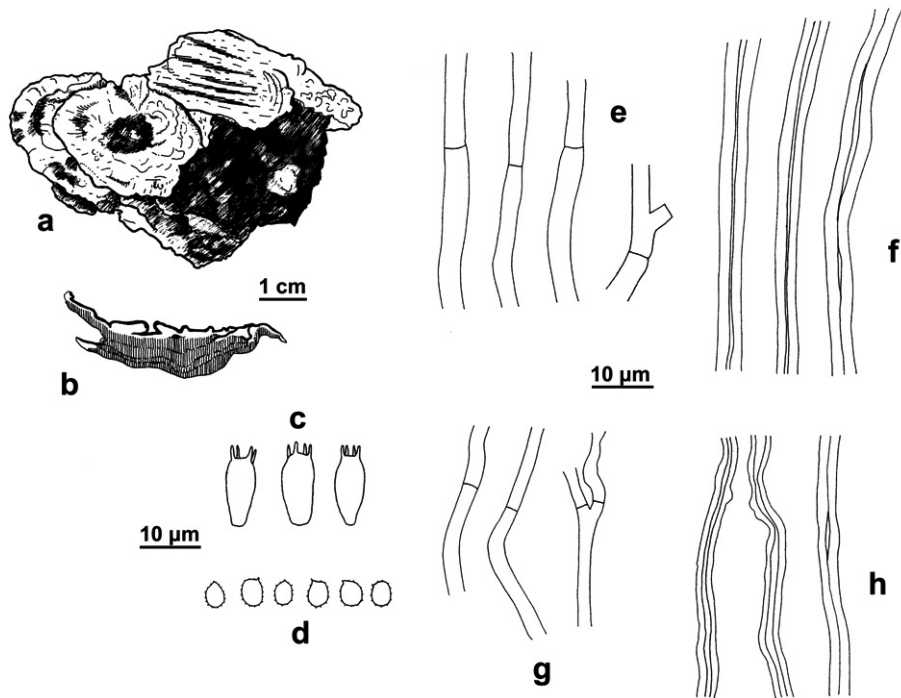


図-2. マツノネクチタケ子実体 (乾燥標本) の構造 (TFM F-21782): a. 子実体上面; b. 子実体断面; c. 担子器; d. 担子孢子; e. 傘実質の生殖菌糸; f. 傘実質の骨格菌糸; g. 子実層托実質の生殖菌糸; h. 子実層托実質の骨格菌糸 (Tokuda *et al.*, 2009)

Fig. 2. Structures of *Heterobasidion parviporum*, from specimen (TFM F-21782): a. Basidiocarp; b. Vertical section of basidiocarp; c. Basidia; d. Basidiospores; e. Generative hyphae from context; f. Skeletal hyphae from context; g. Generative hyphae from trama; h. Skeletal hyphae from trama (Tokuda *et al.*, 2009)

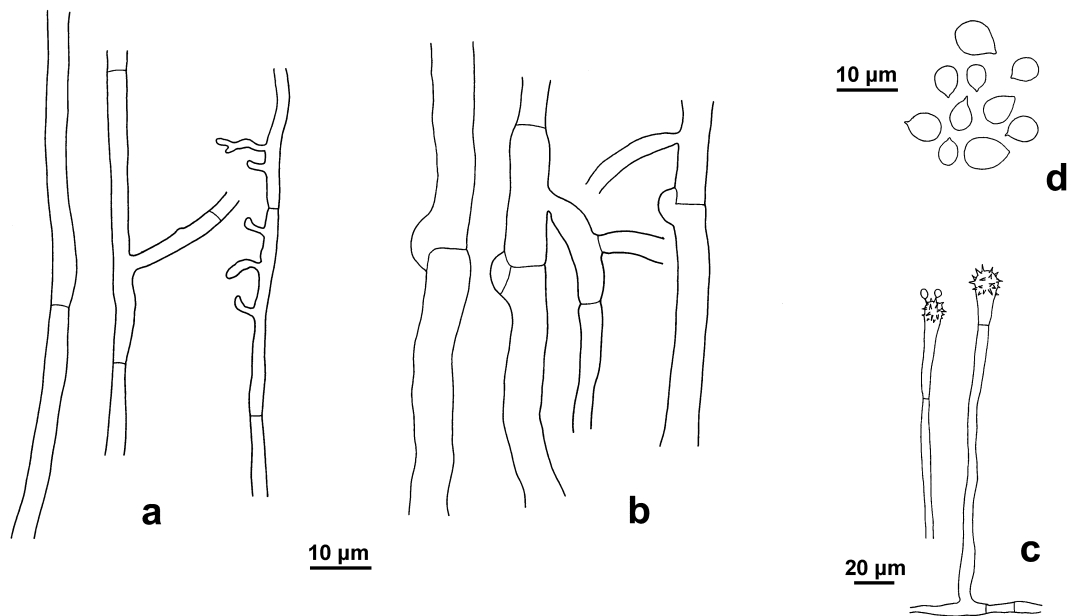


図-3. マツノネクチタケ培養菌糸の構造 (MAFF-420761): a. 生殖菌糸 (気中菌糸); b. クランプコネクションを有する生殖菌糸 (菌叢周縁部); c. 分生子柄; d. 分生子 (Tokuda *et al.*, 2009)

Fig. 3. Structures of *Heterobasidion parviporum*, in culture (MAFF-420761): a. Generative hyphae from aerial mycelium; b. Generative hyphae with clamp-connections from colony margin; c. Conidiophores; d. Conidia (Tokuda *et al.*, 2009)

縁は全縁。辺縁の不稔部は管孔面と同色，幅1-2 mm。傘肉は薄く，0.5 cm以下，皮革質，層をもたない，黄白色（5Y-9/1）から浅黄色（5Y-9/4），古くなると浅黄橙色（10YR-8/4）から浅黄茶色（10YR-7/4）を呈する，明瞭な殻皮を有する，垂直方向に切断したとき殻皮の断面は光沢を有し，暗褐色もしくはほぼ黒色（10YR-3/2），厚さ140 μm 以下。管孔はコルク質，肉と同色，各層の長さは1-3 mm，層の境目は不明瞭，古くて成長の悪い子実体では新しい管孔が管孔面全体には形成されず，部分的に形成されパッチ状に発達することがある。

菌糸は2菌糸型で，生殖菌糸と骨格菌糸を持つ。傘実質の生殖菌糸は薄壁，クランプコネクションをもたない，無色，IKI-，径1.5-3(-4) μm 。傘実質の骨格菌糸は厚壁，壁の厚さは2.5 μm 以下，クチクラを除き無色，デキストリノイド，径3-4(-5) μm 。子実層托実質の生殖菌糸は薄壁，無色，IKI-，径2-3 μm 。子実層托実質の骨格菌糸は厚壁，壁の厚さは1.5 μm 以下，無色，デキストリノイド，径2.5-3.5 μm 。シスチジアをもたない。担子器は幅の広い棍棒状，12-14 \times 5-6.5 μm ，4孢子性。担子胞子は粗面，亜球形，無色，IKI-，(3.3-)-3.6-5.0(-5.6) \times (2.9-)-3.0-4.3(-4.8) μm ，L = 4.4 μm ，W = 3.6 μm ，r = 1.0-1.5，R = 1.20 (n = 673/8)。

培養特性：成長はやや速く，1日あたり4.8-7.9 mm，シャーレは通常2-3週間以内に覆われるが，活力が落ちた菌株では6週間経ってもシャーレが覆われることはない。周縁部は成長の遅い菌株を除き全縁，菌糸はまばらで倒伏する，無色～白色。菌叢は白色（5Y-9/1）から淡～浅黄色（5Y-9/2，9/4），菌叢をかざすと透ける，うぶ毛状～薄い綿毛状，のちにややフェルト状，起立した分生子柄を有して粉状を呈する，ときに茶色～灰褐色（5YR-4/4，4/8，5/4，5/8）で皮革状の菌糸膜がコロニー上面に形成され，6週間後には部分的にコロニー表面を覆うことがある。菌叢裏面の色は6週間経っても変化しない，もしくは穏黄橙色（10YR-7/8，8/8）を呈する。においは不明瞭。子実層托は6週間以内に形成されない。コロニー成長の最適温度は16-22 $^{\circ}\text{C}$ 。菌叢周縁部の生殖菌糸は薄壁，通常クランプコネクションをもたない，透明，IKI-，径1.5-5.0(-7.5) μm 。気中菌糸および培地中の菌糸は無色，薄壁，IKI-；クランプコネクションはまれ，幅広で通直な菌糸上に形成され，径2.0-5.5 μm 。分生子柄は菌糸から直立し，枝分かれしないか，もしくは分岐する，無色，長さ250 μm 以下，径4-10 μm ，先端部が膨らみそこに分生子が形成される。分生子が形成される膨らんだ先端部は径6-15 μm で，分生子が着生する円錐形の小突起に覆われる。分生子は大量に形成される，卵形～亜球形，単胞，平滑，無色，IKI-，(3-)-3.5-8.0(-10.5) \times (2.0-)-2.5-6.5(-8.0) μm ，L = 5.2 μm ，W = 4.0 μm ，r = 1.0-2.0，R = 1.32 (n = 340/4)。

細胞外酸化酵素活性：グアヤク脂+， α -ナフトール+，チロシン-。Nobles (1965) のキーコード：2，(5)，6，7，(11)，

(12)，(25)，33，36，(38)，(39)，42，(43)，(47)，(54)，55，59。Stalpers (1978) のキーコード：1，3，6，(10)，(9)，(12)，13，(14)，17，18，21，(22)，24，(25)，30，31，(34)，(35)，(38)，(39)，(40)，(44)，(45)，(48)，(50)，(51)，52，53，54，(55)，(64)，(82)，(83)，86，87，(89)，90，93。

宿主：日本：トドマツ，アカエゾマツ，エゾマツ，シラビソ，オオシラビソ，ツガ，コメツガ。中国：Abies delavayi Franch., A. fabri (Mast.) Craib, A. fargesii Franch., A. forrestii var. georgei (Orr) Farjon, トウシラベ (Abies nephrolepis (Trautv.) Maxim.), Larix griffithii Hook. f. et Thomson, エゾマツ, Picea likiangensis (Franch.) E. Pritz., P. schrenkiana subsp. tianshanica (Rupr.) Bykov, チョウセンゴヨウ (Pinus koraiensis Siebold et Zucc.), テーシャン (Tsuga chinensis (Franch.) E. Pritz.), Tsuga dumosa (D. Don) Eichler, ヤマナラシ属 (Dai et al., 2003, 2006, 2007a)。樹皮が残る倒木の樹幹や根に発生する。東アジアにおける分布：日本：北海道および本州の亜高山帯。中国：中国北部からヒマラヤ東部。

供試標本：日本：北海道阿寒町，阿寒湖，トドマツ倒木，2002年9月20日，徳田佐和子採集 (TFM F-21781, ex HFB-102；TFM F-21782, ex HFB-103；TFM F-21783, ex HFB-104)；アカエゾマツ倒木，2002年9月20日，徳田佐和子採集 (TFM F-21784, ex HFB-105)；北海道足寄町，雌阿寒岳，アカエゾマツ倒木，1996年10月9日，徳田佐和子採集 (TFM F-21774, ex HFB-89)；アカエゾマツ倒木，1999年10月9日，徳田佐和子採集 (TFM F-21775, ex HFB-90；TFM F-21776, ex HFB-91)；トドマツ倒木，1999年10月9日，徳田佐和子採集 (TFM F-21777, ex HFB-92；TFM F-21778, ex HFB-93)；トドマツ倒木，2000年10月12日，徳田佐和子採集 (TFM F-21780, ex HFB-101)；トドマツ倒木，2002年9月15日，徳田佐和子採集 (TFM F-21785, ex HFB-106；TFM F-21786, ex HFB-107；TFM F-21787, ex HFB-108)；トドマツ倒木，2002年6月6日，徳田佐和子採集 (TFM F-21788, ex HFB-109)；アカエゾマツ倒木，2004年9月26日，太田裕子採集 (TFM F-21794, ex HFB-130；TFM F-21795, ex HFB-131)；アカエゾマツ倒木，2004年9月27日，徳田佐和子採集 (TFM F-21796, ex HFB-132；TFM F-21797, ex HFB-135)；北海道上川町，層雲峡，1973年9月6日，青島清雄・林康夫採集 (TFM F-14397；F-21803)；トドマツ，1953年8月，青島清雄採集 (TFM F-14652；F-14685)；北海道鹿追町，然別湖，トドマツ倒木，2004年9月4日，徳田佐和子採集 (TFM F-21798, ex HFB-148；TFM F-21799, ex HFB-149；TFM F-21800, ex HFB-150)；エゾマツ倒木，2004年9月17日，徳田佐和子採集 (TFM F-21789, ex HFB-123)；トドマツ倒木，2004年9月17日，徳田佐和子採集 (TFM F-21790, ex HFB-124)；エゾマツ倒木，2004年9月22日，徳田佐和子採集 (TFM F-21791, ex HFB-126)；トドマツ倒木，2004年9月22日，徳田佐和子採集 (TFM F-21792, ex HFB-128)；エゾマツ倒木，2004年9月26日，太田

裕子採集 (TFMF-21793, ex HFB-129); 北海道津別町, チミケップ湖, トドマツ倒木, 2007年5月30日, 徳田佐和子採集 (TFM F-21773, ex HFB-197); 北海道芽室町, 芽室岳, トドマツ倒木, 1997年5月5日, 徳田佐和子採集 (TFM F-21779, ex HFB-100); 群馬県片品村丸沼, シラビソ, 1951年10月18日, 青島清雄採集 (TFM F-14675); 長野県, ハケ岳, 1951年5月, 蜂屋採集 (TFM F-22380)。中国: Jilin Prov., Antu County, トウヒ属, 2005年8月29日, Y-C. Dai採集 (TFM F-21801, ex Dai-6976); Xizang Auto. Reg., Linzhi County, カラマツ属, 2004年8月4日, Y-C. Dai採集 (TFM F-21802, ex Dai-5725)。

供試菌株: MAFF-420761, ex HF-401, F-21785の子実体組織から分離; MAFF-420763, ex HF-407, F-21786の子実体組織から分離; MAFF-420764, ex HF-413, F-21787の子実体組織から分離; HF-415, F-21781の子実体組織から分離; MAFF-420768, ex HF-431, F-21784の子実体組織から分離; HF-599, F-21799の子実体組織から分離; HF-600, F-21800の子実体組織から分離; WD-1211, トドマツ腐朽材 (北海道阿寒町, 1952年11月, 亀井専次採集) から分離; WD-1212, トドマツ腐朽材 (群馬県片品村, 1952年7月, 青島清雄採集) から分離; WD-1213, トドマツ腐朽材 (北海道層雲峡, 1954年9月25日, 青島清雄採集) から分離。

備考: 本種は, 東アジアに産するマツノネクタケ属のなかで, 子実体が多年生かつ半背着生, 傘表面には密綿毛と明瞭な環溝を有する, 孔口 (4-5/mm) が小さい, という点において他種と区別することができる。本種のヨーロッパ産のものは, 傘表面の密綿毛がより長く, かつ, 孔口がやや大きい点が東アジア産のものとは異なるが, 他の形態的特徴は等しい。本種は, 東アジアでは主に亜寒帯の亜高山帯にある成熟した森林に分布し, 稀な種であると考えられる。

Heterobasidion orientale Tokuda, T. Hatt. & Y.C. Dai, Mycoscience 50: 193 (2009). 図-4, 5

'*Polystictus persoonii*' Cooke, auct. non Cooke: Yasuda, Bot. Mag. Tokyo 26:262, 1912. '*Fomitopsis insularis*' (Murrill) Imazeki, auct. non Murrill: Imazeki, Acta Phytotaxonomica et Geobotanica 13:253, 1943. '*Heterobasidion insulare*' (Murrill) Ryvardeen, auct. non Murrill: Imazeki & Hongo, Colored Illustrations of Mushrooms of Japan II:168, ut '*H. insularis*', 1989.

Basidiocarpia annua, sessilia vel effusi-reflexi. Pilei dimidiati, flabelliformes vel elongati, glabri, badii vel fuscii. Pori angulares vel labyrinthiformes, 2-3 per mm; tubi 2-8 mm longi. Contextus suberosus, cremeus vel luteus. Systema hypharum dimiticum; hyphae generativae afibulatae, hyalinae; hyphae skeletales dextrinoideae. Basidiosporae globosae, asperulae, (3.5-)4.0-5.6(-6.4) × (3.0-)3.2-4.5(-5.1) μm.

Holotypus: Japonia, Hokkaido, Mikasa, Minenobu, in truncis

Abietis sachalinensis, leg. S. Tokuda, 24 Aug. 2002 (TFM F-21825, ex HFB-172) .

Etymology: Latin, oriental, after its distribution.

和名: レンガタケ

子実体は1年生, 無柄, 背着生~半背着生。傘は貝殻形, 扇形~棚形, 基質に幅広く固着し, 扁平, 数個が重生もしくは単生する。傘の幅は1.5-9.5 cm, 張り出した半径0.7-4 cm, 基部の厚さは1.0-4.5 cm。背着生の場合, しばしば基質上に広く広がり, 幅12cmに及ぶ。傘表面は平滑, 基部近くでまれに密綿毛をもつ, 乾燥すると放射状もしくは不規則にしわがよる, 部分的に疣状, 不鮮明な環紋あり, 茶色~灰茶色 (5 YR-4/2, 4/4, 4/8, 5/4, 5/8, 10YR-4/4, 5/4), 部分的に暗褐色~ほぼ黒色 (5 YR-3/2, 3/4, 10YR-3/2, 3/4), しばしば赤茶色から暗赤褐色 (10R-3/4, 3/8, 4/8) または橙色 (5 YR-6/12) の同心円状の帯ができる, 成長が旺盛なときの周辺部は浅黄色 (5 Y-9/2, 10YR-9/4) から黄白色 (5 Y-9/1)。傘の縁は薄く鋭い, ときに波状となる。管孔面ははじめ黄白色 (5 Y-9/1), のちに淡黄色 (5 Y-9/2, 9/4) から浅黄橙色 (10YR-8/8, 9/4)。孔は角形~円形, もしくは迷路状, しばしば細長く引き伸ばされる, 1 mmあたり (1-)2-3 (-4) 個, 幅 70-1500 μm, 孔壁の縁は虫食い状, 厚さ25-300 μm。辺縁の不稔部は幅0.5-3.0 mm, 管孔面と同色。管孔は長さ2-8 mm, 肉と同色。肉は新鮮なとき柔軟, 乾くとコルク質, 層をもたない, 黄白色 (5 Y-9/1) から淡黄色 (5 Y-9/2), 厚さ2-8 mm, 基部の厚さは最大20 mm, 周辺部を除き薄い殻皮をもつ, 殻皮の厚さは最も厚くなる基部で最大50 μm。

菌糸は2菌糸型で, 生殖菌糸と骨格菌糸をもつ。傘実質の生殖菌糸は無色, 薄い壁, クランプコネクションをもたない, 無色, IKI-, 径2.0-3.5 μm。傘実質の骨格菌糸は豊富, 通直~波状, 厚壁, 壁の厚さは最大2.5 μm, クチクラを除き無色, やや弱いデキストリノイド, 径 (2.5-)4.0-5.0(-8.0) μm。子実層托実質の生殖菌糸は薄壁, クランプコネクションをもたない, 無色, IKI-, 径2-3 μm。子実層托実質の骨格菌糸は厚壁, 壁の厚さは最大2 μm, 無色, デキストリノイド, 径 (2-)3-4 μm。シスチジアをもたない。担子器は棍棒状, ときとして中央部でややくびれる, 4孢子性, 10-12 × 4-5 μm。担子胞子は微細な突起を有する, 球形~重球形, 無色, IKI-, (3.5-)4.0-5.6(-6.4) × (3.0-)3.2-4.5(-5.1) μm, L = 4.9 μm, W = 4.0 μm, r = 1.0-1.6, R = 1.26 (n = 741/9)。

培養特性: 成長はやや速い, 1日あたり4.5-8.0 mm, 成長速度は菌株によって変化が大きい, シャーレは通常2-3週間で覆われるが, 古い菌株では6週間以上かかる。周縁部は全縁, しかし, しばしば, 特に成長が遅い菌株では湾入または部分的に突出することがある, 菌糸はまばらで倒伏する, 透明~白色。菌叢は黄白色 (5 Y-9/1) から淡黄色 (5 Y-9/2, 9/4), 気中菌糸は豊富, 綿状~羊毛状, のちにフェルト状,

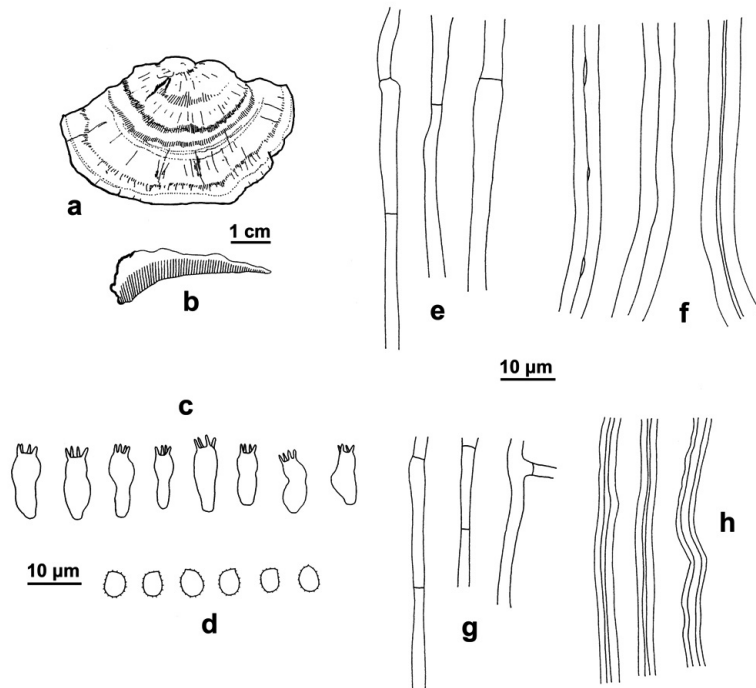


図-4. レンガタケ子実体(乾燥標本)の構造 (TFM F-21825, ホロタイプ) : a. 子実体上面; b. 子実体断面; c. 担子器; d. 担子孢子 ; e. 傘実質の生殖菌糸; f. 傘実質の骨格菌糸; g. 子実層托実質の生殖菌糸; h. 子実層托実質の骨格菌糸 (Tokuda *et al.*, 2009)
 Fig. 4. Structures of *Heterobasidion orientale*, from specimen (TFM F-21825, holotype): a. Basidiocarp; b. Vertical section of basidiocarp; c. Basidia; d. Basidiospores; e. Generative hyphae from context; f. Skeletal hyphae from context; g. Generative hyphae from trama; h. Skeletal hyphae from trama (Tokuda *et al.*, 2009)

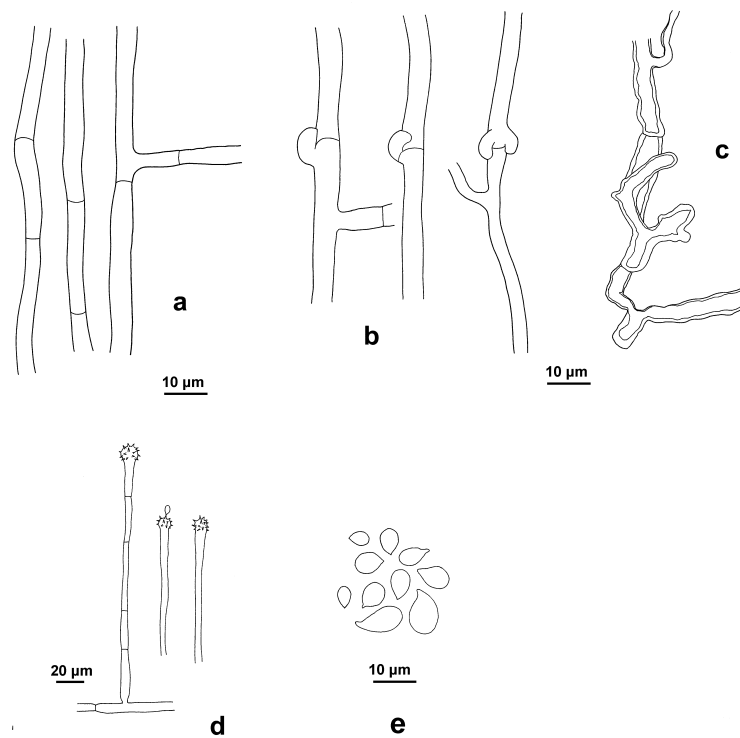


図-5. レンガタケ培養菌糸の構造 (MAFF-420773, ホロタイプから分離) : a. 生殖菌糸 (気中菌糸) ; b. クランプコネクションを有する生殖菌糸 (菌叢周縁部) ; c. インターロッキング菌糸 (気中菌糸) ; d. 分生子柄; e. 分生子 (Tokuda *et al.*, 2009)
 Fig. 5. Structures of *Heterobasidion orientale*, in culture (MAFF-420773, ex holotype): a. Generative hyphae from aerial mycelium; b. Generative hyphae with clamp-connections from colony margin; c. Interlocking hyphae from aerial mycelium; d. Conidiophores; e. Conidia (Tokuda *et al.*, 2009)

大量の分生子を有し粉状。菌叢裏面の色は6週間経っても変化しない、もしくは部分的に浅黄茶色(10YR-7/8, 8/8)を呈する。においは不明瞭。子実層托は6週間以内に形成されない。菌糸成長の最適温度は19-25°C。周縁部の生殖菌糸は薄壁、通常クランプコネクションをもたない、無色、IKI-, 径2.5-6.0(-8.0) μm 。空中菌糸と培地中の菌糸の生殖菌糸は無色、通常薄壁、まれに厚壁となり最大(2 μm)、径(1.5-)3.0-8.0(-10.0) μm 、まれにクランプコネクションをもつ。クランプコネクションは、特に周縁近くの幅が広く通直な菌糸上に形成されることが多い、ほとんどの場合1個ずつ形成されるがごくまれにダブルクランプがみられる。薄壁の生殖菌糸は通直、分岐しない、または分岐する、まれに短い乳頭状の側枝をもつ、細胞質には顆粒もしくは小型の油滴がみられる。厚壁の癒着した菌糸がときおりコロニーの古い部分に形成される。分生子柄は菌糸から枝状に起立する、しばしばつけね近くで細くなる、ほとんどの場合枝分かれしない、もしくはまれに分岐する、最大の長さ260 μm 、幅4-12 μm 。分生子が形成される膨らんだ先端部は幅8-19 μm で、分生子が着生する円錐形の突起に覆われる。分生子は豊富、卵形~亜球形、単胞、平滑、無色、IKI-, (4.1-)5.2-10.0(-15.0) \times (2.8-)3.4-6.5(-9.5) μm , L = 7.2 μm , W = 4.8 μm , r = 1.0-2.4, R = 1.5 (n = 379/3)。

細胞外酸化酵素活性: グアヤク脂+, α -ナフトール+, チロシン-。Nobles (1965) のキーコード: 2, (5), 6, 7, (12), 25, 33, 36, 38, 42, 43, (47), (54), (54), 55, 59。Stalpers (1978) のキーコード: 1, 3, 6, 7, (10), (11), (12), 13, (14), (15), 18, (21), 22, (24), 25, 30, 31, (38), (39), (40), 45, (48), (50), (51), (52), 53, 54, (55), (64), 86, 87, (89), 90, 93。

宿主: 日本: アカエゾマツ, エゾマツ, モミ (*Abies firma* Siebold et Zucc.), トドマツ, シラビソ, モミ属 sp., スギ (*Cryptomeria japonica* (L. f.) D. Don), ヤチダモ (*Fraxinus mandshurica* Rupr. var. *japonica* Maxim), カラマツ (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carrière), ヒメバラモミ (*Picea maximowiczii* Regel ex Carrière), アカマツ, *Pinus nigra* Arnold。中国: モミ属, マツ属 (Dai *et al.*, 2002, 2006)。伐根もしくは倒木上に発生する。

分布: 日本: 北海道, 本州, 九州, 小笠原群島。中国: Heilongjiang Prov., Jilin Prov.。

供試標本: 日本: 北海道旭川市神居古潭, 1963年8月12日, 青島・林・小林採集, (TFM F-22361); 北海道上川町, 層雲峡, 1963年8月14日, 青島・林・小林採集, (TFM F-14618); 北海道空知郡山部熊ノ巣沢, 東京大学演習林, ヤチダモ, 1962年9月24日, 林康夫採集, (TFM F-14654); 北海道空知郡山部村, 大麓山, 1963年8月17日, 青島・林・小林採集, (TFM F-10426); 1962年9月25日, 林靖夫採集, (TFM F-14660); 1963年8月17日, 青島・林・小林採集, (TFM F-14614); 北海道山部平沢, 東京大学北海道演習林, トドマツ, 1962年9月24日, 林康夫

採集, (TFM F-14683); 1963年8月16日, 青島・林・小林採集, (TFM F-14692); 北海道山部麓郷, 東京大学演習林, *Pinus nigra*, 1962年9月26日, 林康夫採集, (TFM F-11828); 北海道池田町, トドマツ生立木の根元付近, 1995年10月3日, 徳田佐和子採集, (TFM F-21821, ex HFB-162); 北海道上川郡新得町岩松, アカエゾマツ伐根, 2002年10月10日, 徳田佐和子採集, (TFM F-21820, ex HFB-95); 北海道札幌市, 円山, ヨーロッパトウヒ, 1962年8月27日, 亀井専次採集, (TFM F-14666); 北海道千歳市恵庭, 支笏湖, 1963年8月10日, 青島・林・小林採集, (TFM F-14665; F-14676; F-14680; F-14690; F-21805); 1966年9月14日, 青島清雄採集, (TFM F-14655; F-14664; F-14684); 北海道苫小牧市丸山, エゾマツ, 1961年9月19日, 林康夫採集, (TFM F-14687); エゾマツ, 1962年9月19日, 林康夫採集, (TFM F-14616); 1962年9月19日, 林康夫採集, (TFM F-14620; F-14679); 北海道三笠市幌内, トドマツ伐根, 1995年11月21日, 徳田佐和子採集 (TFM F-21822, ex HFB-163; TFM F-21823, ex HFB-164, HF-165); 北海道美瑛市峰延, トドマツ伐根, 2002年8月8日, 徳田佐和子採集, (ホロタイプ, TFM F-21825, ex HFB-172); 北海道美瑛市光珠内町東山, アカエゾマツ伐根, 2000年9月14日, 徳田佐和子採集, (TFM F-21824, ex HFB-166); アカエゾマツ伐根, 2002年8月24日, 徳田佐和子採集, (TFM F-21819, ex HFB-94); 宮城県牡鹿郡牡鹿町, 金華山, 1973年10月30日, 小林正採集, (TFM F-21808); 福島県いわき市川前町, 背戸岨廊, 1980年11月21日, 阿部恭久採集, (TFM F-21804); 埼玉県秩父, カラマツ, 1971年8月9日, 林康夫採集, (TFM F-21812); 千葉県安房郡清澄, 1964年4月23日, 青島清雄採集, (TFM F-11827); 千葉県安房郡君津市札郷, 東京大学千葉演習林, 1989年1月9日, 阿部恭久・P. K. Buchanan採集, (TFM F-14952); 東京都八王子, 1963年10月17日, 林康夫採集, (TFM F-10175; F-10176; F-10177; F-14624; F-14672; F-14673; F-14691); 1966年10月23日, 青島・林・小林採集採集, (TFM F-21814); 1979年6月, 阿部恭久採集, (TFM F-21815); 東京都八王子市, 浅川実験林, 1985年9月20日, 阿部恭久採集, (TFM F-13731; F-13732); 山梨県南都留郡鳴沢村, 富士精進口2合目, 1965年8月28日, 青島・小林採集, (TFM F-14611; F-14612); 山梨県, 富士山精進口3合目, 1981年10月6日, 林・小林採集, (TFM F-21817); 山梨県南都留郡, 富士山富士吉田口3合目, 1982年9月, 小林正採集, (TFM F-21818)。長野県西筑摩郡福島町, 木曾山林高校演習林, 1963年9月4日, 古川採集 (TFM F-14662); 長野県小縣郡和田村和田峠, 1964年8月6日, 青島・林・古川採集, (TFM F-11826); 1964年8月7日, 青島・林・古川採集, (TFM F-21810); 長野県諏訪郡原村, アカマツ, 1998年8月23日, 服部力採集, (TFM F-18941); 静岡県磐田郡水窪町, 1961年6月14日, 青島清雄採集, (TFM F-14681); 静岡県磐田郡水窪町戸中山, 1961年6月14日, 青島清雄・林康夫採集, (F-21813); 三重県一志郡美杉町川上, 1967年8月27

日, 古川採集 (TFM F-11825); 京都府北桑田郡, 京都大学芦生演習林, モミ, 1964年7月, 古川・小林採集 (TFM F-14615); 京都府北桑田郡知井村芦生, 1968年7月30日, 青島清雄・林康夫採集, (TFM F-21807); 大阪府高槻市ポンポン山, モミ, 1990年4月3日, 服部力採集, (TFM F-15366); 奈良県春日山, 1966年10月17日, K. Aoshima・Y. Hayashi・N. Sagara採集, (TFM F-21811); 山口県大島郡東和町, 白木山田神社, 1956年8月12日, 勝本謙採集, (TFM F-21816); 宮崎県北諸県郡, 青井岳, 1962年10月15日, 安藤・堂園採集 (TFM F-21809); 宮崎県高原町御池, アカマツ, 2000年7月2日, S. Kurogi採集 (TFM F-20028); 鹿児島県屋久島安房, スギ, 1955年8月3日, 勝本謙採集, (TFM F-21806); 鹿児島県熊毛郡屋久島花ノ江川, 1961年10月20日, 青島清雄採集, (TFM F-14623); 小笠原群島母島, 桑の木山, 1990年6月25日, 服部力採集, (TFM F-15916)。中国: Heilongjiang Prov., Yichun City, Fenglin, モミ属の倒木, 2002年4月7日, Y-C. Dai採集, (TFM F-21833, ex Dai-3601); Jilin Prov., Antu County, Changbai Nat. Res., モミ属腐朽材, 2005年8月29日, Y-C. Dai採集, (TFM F-21834, ex Dai-7136)。

供試菌株: WD-651, F-15366の子実体組織から分離; WD-825, F-15916の子実体組織から分離; WD-1280, F-10175の子実体組織から分離; F-10176の子実体組織から分離; MAFF-420772, F-21819の子実体組織から分離; MAFF-420773, F-21825の子実体組織から分離。

備考: 本種は, Dai *et al.* (2002) が報告した '*Heterobasidion insulare* N group' と同種である。本種のマツノネクタケ属内における分子系統分類学的位置づけは Ota *et al.* (2006) により明らかにされている (Ota *et al.* (2006) では, 当時あてはめられていた学名 '*H. insulare*' として扱っている)。 *Heterobasidion orientale* は, 子実体が1年生で無柄~半背着生, 傘が半円形~扇形で扁平, 傘の表面が赤茶色かつ平滑で周縁部が白い, 傘の表面に薄い殻皮をもつ, 孔が角形~円形もしくは迷路状であるという特徴をもつ。白色の周縁部をもつ赤褐色の傘の色は新鮮なとき特徴がはっきりしているが, 乾くと黒ずみ暗褐色となる。本種は *H. parviporum* よりも宿主樹種の種類が多く, 伐採がなされたばかりの人工林から原生的な森林まで, さまざまなタイプの森林内で普通にみることができる。

Heterobasidion ecrustosum Tokuda, T. Hatt. & Y.C. Dai, Mycoscience 50: 196 (2009). 図-6, 7

Basidiocarpia annua, sessilia. Pilei dimidiati, glabri, lutei vel ochracei. Pori angulares vel rotundi, 2-3 per mm; tubi 10-20 mm longi. Contextus suberosus, cremeus vel luteus. Systema hypharum dimiticum; hyphae generativae afibulatae, hyalinae; hyphae skeletales dextrinoideae. Basidiosporae globosae, asperulae, (3.7-)4.1-5.7(-6.4) × (2.9-)3.3-4.6(-5.3) μm .

Holotypus: Japonia, Okinawa, insula Iriomote, prope flumen

Shiira, in truncis *Pini luchuensis*, leg. T. Hattori, 12 Nov. 1997 (TFM F-18051) .

Etymology: Latin, without a crust; after the pileus that frequently lacks a crust.

和名: カラナシレンガタケ

子実体は1年生, 傘は無柄で基質に幅広く固着する, 単生もしくは数個が連なり重生, 扁平~丸山形もしくはくさび形の断面となる, 幅1.5-8.7 cm, 半径1.5-5.0 cm, 厚さ1.2-6.0 cm。傘の表面は無毛平滑, 不明瞭な環紋を表すかまたは環紋をもたない, しばしば浅い環溝を表す, ときに疣状の小さい瘤をおびる, 淡茶色 (10YR-8/2) から淡黄橙色 (10YR-9/2, 9/4) もしくは浅黄茶色~黄橙色 (10YR-7/4, 7/8, 7/12, 8/8), 部分的に橙色 (5YR-6/12), 殻皮はほとんど発達せず基部近くのみみられる, また, しばしば殻皮が傘上面にパッチ状に発達することがある, 殻皮は暗黄褐色 (10YR-3/4) またはほぼ黒色 (10YR-2/2, 3/2)。縁は鈍縁で, 平坦, 全縁。管孔面は平滑, 淡黄色橙色 (10YR-9/4) または浅黄橙色 (10YR-8/4, 9/4), 孔は角形~円形, まれに迷路状, しばしば細長く伸びる, 1mmあたり (1-)2-3(-4)個, 径120-700 μm , 孔壁は全縁, 厚さ50-270 μm 。辺縁の不稔部は幅1.0-2.5 mm程度で欠くこともある。管孔は管孔面と同色, 長さ10-20 mm。肉はコルク質, 淡黄色 (5Y-9/2) から浅黄色 (5Y-9/4), 浅黄橙色 (10YR-8/4, 9/4), 厚さ1.0-2.5 (-5.0) mm, 最も厚くなる基部では最大10 mm程度, 薄い殻皮をもつ場合がある, 殻皮は暗褐色, 厚さは最大100 μm 。

菌糸は2菌糸型で生殖菌糸と骨格菌糸をもつ。傘実質の生殖菌糸は薄壁, クランプコネクションをもたない, 無色, IKI-, 径2-4(-9) μm 。傘実質の骨格菌糸は厚壁 (厚さ2 μm 以下), 無色, やや弱いデキストリノイド, 径(2-)3-4(-5) μm 。子実層托実質の生殖菌糸は薄壁でクランプコネクションをもたない, 無色, IKI-, 径2.0-3.5 μm 。子実層托実質の骨格菌糸は厚壁, 壁の厚さは1.5 μm 以下, 無色, デキストリノイド, 径(2.5-)3-4(-5) μm 。シスチジアはない。担子器は棍棒型, 12-20 × 5-7 μm , 4孢子性。担子胞子は微細な突起を有し粗面, 球形~亜球形, 無色, IKI-, (3.7-)4.1-5.7(-6.4) × (2.9-)3.3-4.6(-5.3) μm , L = 4.9 μm , W = 3.9 μm , r = 1.0-1.6, R = 1.25 (n = 1120/9)。

培養特性: 成長は比較的速く, 1日あたり9.1-11.5 mm, シャーレは1-2週間で覆われる。周縁は全縁, 菌糸はまばらで倒伏する, 無色~白色。菌叢は黄白色 (5Y-9/1) から浅黄色 (5Y-9/2, 9/4) もしくは穏黄橙色 (10YR-7/4, 8/4), かざすと透ける, うぶ毛状~綿毛状, もしくは部分的に羊毛状, のちにフェルト状~ややフェルト状, 起立した分生子柄が形成され部分的に粉状。菌叢裏面の色は6週間経っても変化しない。においは不明瞭。菌糸成長の最適温度は22-28°C。周縁部の生殖菌糸は薄壁, しばしばクランプコネクションをもつ, 無色, IKI-, 径3.5-6(-9) μm 。空中菌糸および埋没

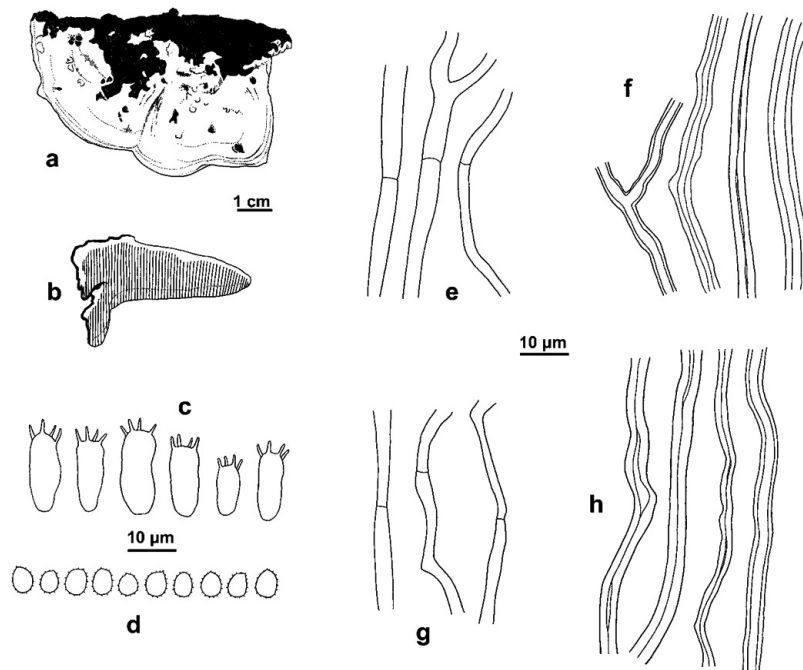


図-6. カラナシレンガタケ子実体（乾燥標本）の構造（TFM F-18051, ホロタイプ）：a. 子実体上面; b. 子実体断面; c. 担子器; d. 担子孢子; e. 傘実質の生殖菌糸; f. 傘実質の骨格菌糸; g. 子実層托実質の生殖菌糸; h. 子実層托実質の骨格菌糸 (Tokuda *et al.*, 2009)

Fig. 6. Structures of *Heterobasidion ecrustosum*, from specimen (TFM F-18051, holotype): a. Basidiocarp; b. Vertical section of basidiocarp; c. Basidia; d. Basidiospores; e. Generative hyphae from context; f. Skeletal hyphae from context; g. Generative hyphae from trama; h. Skeletal hyphae from trama (Tokuda *et al.*, 2009)

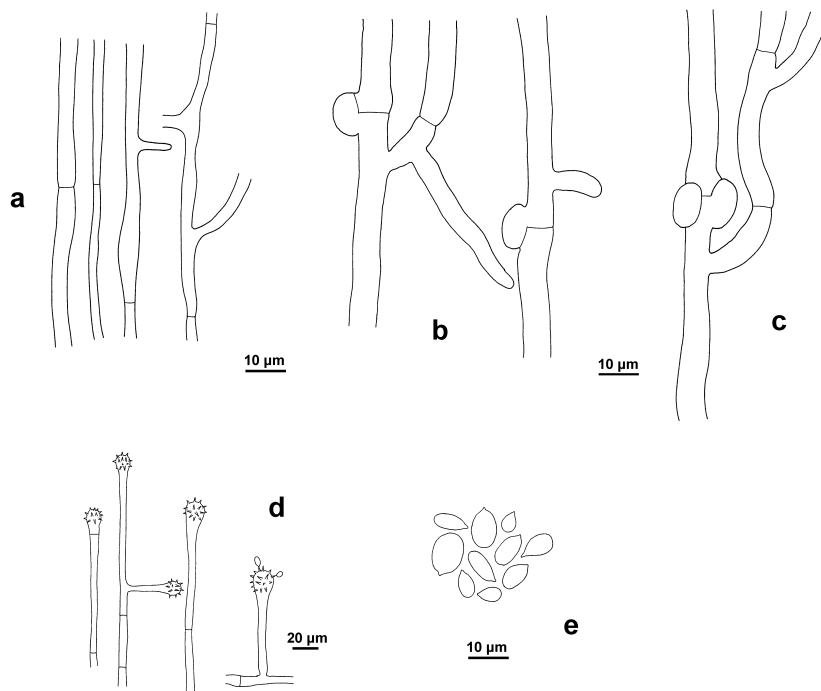


図-7. カラナシレンガタケ培養菌糸の構造 (a, d, e: WD-1945, ホロタイプから分離. b, c: WD-2220) : a. 生殖菌糸 (気中菌糸); b. クランプコネクションを有する生殖菌糸 (菌叢周縁部); c. ダブルクランプコネクションを有する生殖菌糸 (菌叢周縁部); d. 分生子柄; e. 分生子 (Tokuda *et al.*, 2009)

Fig. 7. Structures of *Heterobasidion ecrustosum*, in culture (a, d, e: WD-1945, ex holotype. b, c: WD-2220): a. Generative hyphae from aerial mycelium; b. Generative hyphae with clamp-connections from colony margin; c. Generative hyphae with double clamp-connections from colony margin; d. Conidiophores; e. Conidia (Tokuda *et al.*, 2009)

した菌糸の生殖菌糸は薄壁、まれに厚壁、壁の厚さは2 μm 以下、幅が広く通直な菌糸上に単生のクランプコネクションもしくはダブルクランプコネクションをもつことがある、クランプコネクションは周縁近くで見つけやすい、無色、IKI-, 径(2-)3-8(-9) μm 。分生子柄は菌糸から側枝として起立し、しばしば根元付近でくびれる、枝分かれしないか、もしくは分岐する、長さは300 μm 以下で変化に富む、径4-10 μm 。分生子が形成される膨らんだ先端部は幅8.3-18.1 μm で、分生子が着生する円錐形の小突起に覆われる。分生子は豊富、卵形~垂球形で、ときとして長楕円形、単胞、平滑、無色、IKI-, (3.2-)4.8-9.7(-17.1) \times (2.9-)3.5-6.6(-12) μm , L = 6.9 μm , W = 4.6 μm , r = 1.1-2.6, R = 1.50 (n = 341/4)。

細胞外酸化酵素活性: グアヤク脂+, α -ナフトール+, チロシン-。Nobles (1965) のキーコード: 2, (5), 6, 7, (11), (12), 33, 36, 38, 42, (47), 55, 59。Stalpers (1978) のキーコード: 1, 3, 6, (12), 13, 14, (17), 18, (19), 21, (22), 24, (25), 30, 31, (38), (39), (40), (44), 45, (48), (51), 52, 53, 54, (55), (64), (82), (83), 86, 87, 90, 93。

宿主: 日本: アカマツ, クロマツ, リュウキュウマツ, マツ属。中国: タイワンアカマツ (*Pinus massoniana* Lamb.), リュウキュウマツ, マツ属 (Dai *et al.*, 2002)。立ち枯れ木, 伐根, 倒れてからまもない倒木上に発生する。

供試標本: 日本: 鹿児島県肝属郡大根占町, 1963年10月18日, 青島清雄採集, (TFM F-14682); 神奈川県真鶴, アカマツ, 1999年5月22日, M. Hisataka採集 (TFM F-19272); 熊本県熊本市立田山, マツ属, 2003年10月12日, (TFM F-21295); 沖縄県西表島後良川, リュウキュウマツ, 1997年11月12日, 服部力採集, (ホロタイプ, TFM F-18051); 沖縄県国頭村与那覇岳, リュウキュウマツ, 2001年11月2日, 太田祐子採集, (TFM F-19882); リュウキュウマツ, 2001年11月2日, 太田祐子採集, (TFM F-22384); 沖縄県宮古島下地, リュウキュウマツ, 2004年6月22日, 河辺祐嗣採集, (TFM F-21297); 山口県下関長府町, クロマツ, 1956年1月26日, 勝本謙採集, (TFM F-14668)。中国: Jiangsu Prov., Nanjing, Mt. Zijingshan, マツ属伐根, 2003年10月10日, Y-C. Dai採集, (TFM F-21827, ex Dai 5236); Jiangsu Prov., Nanjing, Mt. Zijingshan, マツ属伐根, 2003年10月10日, Y-C. Dai採集, (TFM F-21828, ex Dai 5251)。

供試菌株: WD-1945, F-18051の子実体組織から分離; WD-2080, F-19272の子実体組織から分離; WD-2220, F-19882の子実体組織から分離; WD-2221, F-22384の子実体組織から分離。

備考: 本種は, Dai *et al.* (2002) の報告で '*Heterobasidion insulare* T group' として分類された。また, Ota *et al.* (2006) では '*undetermined Heterobasidion sp.*' として分子系統解析が行われた。本種*Heterobasidion ecrustosum* (和名: カラナシレンガタケ) は, 子実体が丸山型で, 傘が半円形, 傘表面の色が淡色で通常殻皮に覆われない, 殻皮はあっても基部付近

に限定される, 肉が薄い, 管孔が長い, 四角形~円形の孔をもつ, 孔口は1 mmあたり2-3個という特徴をもつ。

Heterobasidion annosum (Fr.) Bref. Unters. Gesamtg. Mykol. 8 :154 (1888) .

子実体は1年生~多年生, 無柄の傘をつくるか半背着生, 数個が重なって重生, もしくは単生。傘の形は変化に富み, しばしば半円形となる。傘表面は密綿毛に覆われる~ほぼ無毛で平滑, 灰茶色 (5 YR-4/4) から暗灰褐色 (5 YR-2/4, 3/4, 10R-3/2), 部分的にはほぼ黒色 (5 YR-2/2, 10R-2/2) となり, 周縁は淡黄色 (5 Y-9/4)。傘の縁は鈍縁~鋭縁で, 厚さは変化に富む, 全縁もしくは波状。管孔面は浅黄色 (5 Y-9/4)。孔は円形~角形, 1 mmあたり2-3個。肉はコルク質で厚さ7 mm以下, 明瞭な殻皮をもつ。管孔は肉と同色, 各層の長さは7 mm以下。

菌糸は2菌糸型。傘実質の生殖菌糸は薄壁, 無色, クランプコネクションをもたない, 径2-4.5 μm 。傘実質の骨格菌糸は厚壁, クチクラを除き無色, 径(2-)3-4(-5) μm , デキストリノイド。子実層托実質の生殖菌糸は薄壁, 無色, クランプコネクションをもたない, 径1.5-3 μm 。子実層托実質の骨格菌糸は厚壁, 無色, 径3-4 μm , デキストリノイド。担子胞子は粗面, 垂球形, 無色, IKI-, 3.6-4.8(-4.9) \times (2.6-)2.8-3.6(-3.7) μm , L = 4.1 μm , W = 3.1 μm , R = 1.2-1.5, r = 1.32 (n = 52/1)。

供試標本: ポーランド: Podanin, カバノキ属, 2004年8月17日, K. Korhonen採集, (TFM F-21326); ヨーロッパアカマツ, 2004年8月17日, N. La Porta採集, (TFMF-21327), 2004年8月17日, P. Łakomy採集, (TFM F-21829)。チェコ共和国: Cesky Krumlov, Žofinsky prales, 1990年4月25日, P. Vampola採集 (TFM F-21830) .

Heterobasidion parviporum Niemelä & Korhonen, *Heterobasidion annosum*, biology, ecology impact and control:31 (1998) , 'ヨーロッパ型'。

子実体は1年生~多年生, 半背着生~背着生, もしくは傘形, 数個が連なり重生または単生。傘の形は変化に富む, 扁平~やや丸山型。傘上面には密綿毛を有し, 灰茶色 (5 YR-4/4, 5/4) から暗褐色 (5 YR-2/4, 3/4, 10YR-3/4), 基部付近は部分的にはほぼ黒色 (5 YR-2/2), 周縁は浅黄色 (5 Y-9/4) から黄白色 (5 Y-9/1), 短毛は褐色, 密に生えており, 長さ280 μm 以下。縁は鈍縁~鋭縁で薄い, しばしば波状。管孔面は淡~淡黄橙色 (10YR-9/4, 8/4), 孔は円形~角形, 1 mmあたり3-4(-5) 個, まれに長く伸びる。肉はコルク質, 厚さ3 mm以下で明瞭な殻皮をもつ。管孔は肉と同色, 各層の長さは6 mm以下。

菌糸は2菌糸型。傘実質の生殖菌糸は薄膜で無色, クランプコネクションをもたない, 径2-4 μm 。傘実質の骨格菌糸

は厚膜, クチクラを除き無色, 径 (2-) 3-4.5 μm , デキストリノイド。子実層托実質の生殖菌糸は薄膜で無色, クランプコネクションをもたない, 径 2-3 μm 。子実層托実質の骨格菌糸は厚膜, 無色, 径 2-4 μm , デキストリノイド。担子胞子は粗面, 亜球形, 無色, IKI-, (3.4-) 3.8-5.1(-5.5) \times (2.5-) 2.8-4.0(-4.6) μm , L = 4.4 μm , W = 3.4 μm , R = 1.0-1.6, r = 1.29 (n = 231/3)。

供試標本: ポーランド: Suwałki, ヨーロッパトウヒ, 2004年8月17日, P. Łakomy採集, (TFM F-21831); Białowieża, ヨーロッパトウヒ, 2004年8月21日, P. Łakomy採集, (TFM F-21332; F-21328); トウヒ属, 2004年8月21日, N. La Porta採集, (TFM F-213299); ヨーロッパトウヒ, 2004年8月21日, K. Korhonen採集, (TFM F-21330; F-21334); トウヒ属, 2004年8月21日, K. Korhonen採集, (TFM F-21331); ヨーロッパトウヒ, 2004年8月21日, 太田祐子採集, (TFM F-21333)。

備考: このヨーロッパ型 *H. parviporum* は, 傘表面の密短毛がより豊富であることと孔がやや大きいこと以外, アジア産系統と形態的に等しい。交配試験の結果からは, 中国産のマツノネクチタケ (広義) がヨーロッパから報告された *H. parviporum* と同一の種であることが明らかにされている (Dai *et al.* 2006)。また, 分子系統分類学的研究からも, 日本のマツノネクチタケ (広義) '*H. annosum* s.l.' がヨーロッパおよび中国の *H. parviporum* と極めて近縁であることが明らかとなっている (Ota *et al.* 2006)。それゆえ, マツノネクチタケ '*H. annosum* s.l.' の東アジア産系統は *H. parviporum* と同種であると考えられることができる。

Heterobasidion abietinum Niemelä & Korhonen, *Heterobasidion annosum*, biology, ecology impact and control:31 (1998) .

子実体は多年生, 傘型~半背着生。傘は半円形もしくは棚形。傘の表面はいくらかの密綿毛を生じる, もしくはほぼ無毛で平滑, 茶色~灰茶色~黄茶色 (5 YR-4/4, 4/8, 10YR-4/4, 5/4, 5/8) から暗褐色 (5 YR-2/4, 3/4, 10YR-3/4), 部分的にはほぼ黒色 (5 YR-2/1, 2/2), 縁は浅~淡黄橙色 (10YR-8/4, 9/4)。上面の密綿毛は短い。傘の縁は鈍縁~鋭縁, 薄い, 全縁。管孔面は浅~淡黄橙色 (10YR-8/4, 9/4), 孔は円形~角形, 1 mmあたり 2-3 個。肉はコルク質, 厚さ 3 mm以下, 明らかな殻皮をもつ。管孔は肉と同色, 各層の長さは 4 mm以下。

菌糸は 2 菌糸型。傘実質の生殖菌糸は薄壁で無色, クランプコネクションをもたない, 径 2-4 μm 。傘実質の骨格菌糸は厚壁, クチクラを除き無色, 径 (2-) 3-4 μm , デキストリノイド。子実層托実質の生殖菌糸は薄壁, 無色, クランプコネクションをもたない, 径 2-3 μm 。子実層托実質の骨格菌糸は厚壁, 無色, 径 2-4 μm , デキストリノイド。担子胞子は粗面, 亜球形, 無色, IKI-, (3.3-) 3.5-5.0(-5.1) \times (2.6-) 2.7-4.2(-4.5) μm , L = 4.3 μm , W = 3.3 μm , r = 1.0-1.7, R =

1.30 (n = 57/1)。

供試標本: ポーランド: Siemianice, ヨーロッパモミ, 2004年8月21日, P. Łakomy採集, (TFM F-21832)。

Heterobasidion araucariae P.K. Buchanan, *Mycotaxon* 32: 325 (1988) .

子実体は 1 年生~多年生, 無柄~半背着生, 単生もしくは数個の傘からなる重生。傘の形は変化に富む, 扁平~丸山形もしくは蹄形。傘の表面は無毛で平滑, 狭い~広い間隔の溝をなす, 灰茶色~茶色 (10YR-4/4, 5/4, 5 YR-4/4, 4/8, 5/8) ~暗褐色 (5 YR-2/4, 3/2, 3/4), 部分的に黒色に近い暗灰褐色 (5 YR-2/2), 縁は淡黄橙 (10YR-9/2, 9/4) を呈することがある。縁は鈍縁で全縁。管孔面は平坦, 淡黄橙色 (10YR-8/4, 9/4)。孔は円形~角形, または部分的に不規則となる, 1 mmあたり 1-2 個。肉はコルク質, 厚さ 20 mm以下, 明瞭な殻皮をもつ。管孔は肉と同色, 各層の長さは 6-12 mm。

菌糸は 2 菌糸型。傘実質の生殖菌糸は薄壁, 無色, クランプコネクションをもたない, 径 2.5-4 (-5) μm 。傘実質の骨格菌糸は厚壁, クチクラを除き無色, 径 3-5.5(-6) μm , デキストリノイド。子実層托実質の生殖菌糸は薄壁, クランプコネクションをもたない, 径 2.5-4 μm 。子実層托実質の骨格菌糸は薄壁, 無色, 3-4.5(-7) μm , デキストリノイド。頂端に小さな球形の膨らみをそなえたシスチジオールをもつ。担子胞子は粗面, 亜球形, 無色, IKI-, (3.9-) 4.2-6.0(-6.4) \times (3.1-) 3.4-4.7(-5.3) μm , L = 5.1 μm , W = 4.0 μm , R = 1.0-1.6, r = 1.26 (n = 497/5)。

供試標本: ニュージーランド: Northland, Waipoua Forest Sanctuary, Yakas Kauri Track, カウリマツ (*Agathis australis* Salisb.), 1985年9月25日, P. K. Buchanan採集, (ホロタイプ, PDD 48002); Northland, Puketi State Forest, カウリマツ, 1984年9月12日, P. K. Buchanan採集, (PDD 48004); Northland, Trounson Kauri Park, カウリマツ, 1984年9月10日, P. K. Buchanan採集, (PDD 48005); カウリマツ, 1984年9月14日, P. K. Buchanan採集, (PDD 48007), カウリマツ, 1988年1月18日, P. K. Buchanan採集, (PDD 48376); Northland, Omahuta Forest Sanctuary, カウリマツ, 1984年9月11日, P. K. Buchanan採集, (PDD 48577); カウリマツ, 1984年9月11日, P. K. Buchanan採集, (PDD 49000); Auckland, Waitakere Ranges, Cascade Loop Tr., カウリマツ, 1986年4月6日, P. K. Buchanan採集, (PDD 48535)。

Heterobasidion insulare (Murrill) Ryvar den, *Norw. J. Bot.* 19: 237, 1972.

'*Trametes insularis*' Murrill, *Bull. Torrey Bot. Club* 35: 405, 1908.

子実体は 1 年生, 無柄~半背着生。傘の形は不規則, 2-4

× 3-7 × 1-1.5 cm (原記載 (Murrill, 1908) による)。傘の表面はほぼ平滑、殻皮上に薄く密綿毛をこうむる、殻皮は基部近くに限られる、おおむね淡茶色～穏黄橙色 (10YR-6/4, 7/4, 8/4), 部分的に茶色 (5YR-4/8, 5/8, 7/8) から浅茶色 (5YR-6/8), または赤茶色 (10R-3/8, 4/8) をともなう穏橙色 (5YR-7/8), 殻皮は暗褐色～暗黄褐色 (5YR-2/2, 2/4, 3/2, 3/4, 4/4, 10YR-3/4) からほぼ黒色 (10YR-3/2)。縁は丸い、ほぼ平らで全縁。管孔面は平坦、孔は円形～角形、部分的に長く伸びる、1 mmあたり 2-3 個、孔壁は厚いが部分的に薄くなる、辺縁の不稔部は 2 mm以下。肉は厚さ 3 mm以下、コルク質で硬く、管孔と同色、基部から縁にむかって徐々に薄くなる。管孔は基部で 6 mm以下、縁にむかって徐々に短くなる。

菌糸は 2 菌糸型。傘実質の生殖菌糸は薄壁、クランプコネクションをもたない、径 3-4 μm (Murrill, (1908), Dai *et al.*, (2002) の記載による)。傘実質の骨格菌糸は厚壁、波状、クチャラを除き無色、径 2.5-6.0(-7.5) μm , デキストリノイド。子実層托実質の菌糸は 2 菌糸型、子実層托実質の生殖菌糸はタイプ標本劣化のため観察不可、子実層托実質の骨格菌糸は厚壁、無色、径 (2.0-)2.5-3.5(-4.5) μm , デキストリノイド。担子胞子は粗面、球形～亜球形、無色、(4.0-)4.3-5.7(-6.0) × (2.9-)3.2-4.4(-4.8) μm , L = 5.0 μm , W = 3.8 μm , R = 1.0-1.5, r = 1.31。

供試標本：フィリピン：Luzon Is., Benguet Province, Baguio, 標高 1500 m, *Pinus insularis* 倒木, 1905年10-11月, E. D. Merrill 採集, (ホロタイプ, NY 00705030)。

2-3-3 考察

マツノネクチタケ (広義) はヨーロッパでは古くから知られていた木材腐朽菌である。*Heterobasidion annosum* の最初の記載は、カバノキ属から採集された標本に基づき *Polyporus annosus* として、1821年に Fries (1821) によってなされている。*H. annosum* s.l. すなわちマツノネクチタケ (広義) としては、ヨーロッパから 3 種が報告されているほか、北米から 2 種の生物学的種：北米マツ (pine) グループ (NAm-P グループ), 北米トウヒ (spruce) グループ (NAm-S グループ) が知られている (Korhonen *et al.*, 1998a)。また、Stalpers (1996) は、マツノネクチタケ (広義) のほかに 5 種をマツノネクチタケ属菌として認めた。後に、これら 5 種を検討した Hattori (2001) は、*H. araucariae* と *H. insulare* (レンガタケ) については *Heterobasidion* 属菌であるとみなしたが、*H. pahangense* Corner, *H. perplexum* (Ryvarden) Stalpers, *H. rutilantiforme* (Murrill) Stalpers の 3 種については菌糸の特徴が異なることから同属には含まれないことを報告した。一方、傘の肉が厚いコルク質で殻皮をもたない点に特徴がある *H. arbitrarium* (Corner) T. Hatt. がマツノネクチタケ属に加えられた (Hattori, 2001)。本研究では、これまでにみつかった日本産および

東アジア産マツノネクチタケ (広義) (*H. annosum* s.l.) が *H. parviporum* であること、また、これまで *H. insulare* とみなされてきたレンガタケおよび未同定種 *Heterobasidion* sp. がそれぞれマツノネクチタケ属の新種 *H. orientale* および *H. ecrustsum* であることを明らかにした。下記にその検討内容を述べる。

マツノネクチタケ (広義) に含まれる各種は、それぞれやや異なる形態的、生態的特徴をもつ。ヨーロッパに産する 3 種が示す主な形態的違いは、孔の大きさ、子実体の厚さ、傘の縁の厚さ、傘表面の密綿毛の長さや量、ヘテロカリオン菌株を麦芽寒天培地上で育てたときの色調である (Mitchelson and Korhonen, 1998; Niemelä & Korhonen, 1998)。マツノネクチタケ東アジア産系統 (= *H. parviporum*) は、*H. parviporum* ヨーロッパ産系統と形態的特徴が極めてよく似ており、子実体の形態においては孔が小型で傘が薄いこと、培養形態においては菌叢表面を褐色で皮革質の膜が覆うことが共通している。しかし、東アジア産系統の傘にはわずかな軟綿毛しかなくほぼ平滑であるのに対し、ヨーロッパ産系統は特に若い子実体の傘上面にこの種の肉眼的観察上の特徴となるよく発達した軟綿毛をそなえる (Niemelä and Korhonen, 1998)。さらに、日本産の標本は薄く皮革状の肉をそなえて半背着生であるのに対し、ヨーロッパ産の標本はしばしばより厚い肉と発達した半円形の傘をもつ。中国産標本は明瞭な軟綿毛とやや厚い肉をもち、ヨーロッパ産標本と日本産標本の間の特徴をもつといえる。

形態的特徴の違いに加えて、宿主選択性はマツノネクチタケ (広義) を識別する重要な特徴であるとされる (Korhonen, 1978; Dođmuş-Lehtijärvi *et al.*, 2006)。ヨーロッパ産 *H. parviporum* の宿主はヨーロッパトウヒにかなり限定されており、本菌の基本的な分布域はヨーロッパトウヒの自生地と重なる (Korhonen, 1978; Korhonen *et al.*, 1998a; Asiegbu *et al.*, 2005)。ヨーロッパ産 *H. parviporum* が枯死被害をもたらすのは多くの場合ヨーロッパトウヒに対してだが、トウヒ林の跡地に植栽されたヨーロッパアカマツの苗木も枯らすので、多くの樹種に対して潜在的な感染力を持っていると考えられる (Korhonen, 1978; Stenlid and Swedjemark, 1988; Swedjemark and Stenlid, 1995)。ヨーロッパトウヒ、ヨーロッパアカマツのほかに、ヨーロッパではヨーロッパモミ、シベリアモミ、オウシュウシラカンバ (*Betula pendula* Roth), シベリアカラマツ (*Larix sibirica* (Münchh.) Ledeb.), *Pinus contorta* Dougl. ex Loud. var. *latifolia* Wats. がしばしば本菌に感染し、ロシアのウラル地方では本菌によりシベリアモミが枯死する激しい被害が発生している (Piri, 1996; Korhonen *et al.*, 1997; Dai and Korhonen, 1999; Lakomy and Werner, 2003)。

ヨーロッパ産系統に比べると、*H. parviporum* の東アジア産系統はトウヒ属樹木に対しそれほど強い宿主選択性を持っていない (Dai *et al.*, 2006; Tokuda *et al.*, 2007)。日本と中国の *H. parviporum* はモミ属、トウヒ属のさまざまな樹木に発生す

るが、このほかツガ属、カラマツ属、マツ属も宿主とする (Dai *et al.*, 2003; Dai *et al.*, 2006; Tokuda *et al.*, 2007)。さらに、ヨーロッパ産 *H. parviporum* がヨーロッパと西シベリアでヨーロッパトウヒとシベリアモミに対して示す強い病原性は、東アジアに近づくにつれ弱まっていくようである (Dai *et al.*, 2003)。例えば、中国の *H. parviporum* は自生する宿主樹種にとっては強い病原菌ではないことが、Dai *et al.* (2006) によって示唆されている。また、日本国内においては、マツノネクチタケ (広義) によって引き起こされた枯死被害の記録はなく、本菌によって激しい根株腐朽被害を受けたトドマツ人工林においてすら宿主樹木の衰退が観察されなかった (Tokuda *et al.*, 2007)。しかし、このような若干の違いはあるものの、本研究で行った形態的検討においては両系統の子実体および培養菌叢の形態はほぼ同一であった。また、ヨーロッパの菌株と東アジアの菌株は交配可能かつ分子系統分類学的に非常に近縁である (Dai *et al.*, 2006, Ota *et al.*, 2006)。よって、ここでは、マツノネクチタケ東アジア産系統はヨーロッパから報告された *H. parviporum* と同種であると結論づける。上述した形態的、生態的な違いは、種間の違いではなく地域系統レベルの違いとみなせよう。

H. insulare のタイプ標本は、Murrill (1908) が原記載で指摘したように、傘の表面に殻皮をもたず、傘の縁が鈍縁で、角形～円形の孔をそなえる。しかし、長年 *H. insulare* とみなされてきた東アジアの種は、傘の表面が薄い殻皮に覆われ赤褐色を呈する、傘の縁が薄く鋭縁、角形～円形～迷路状の孔をそなえるという特徴をもっており、これらの特徴は *H. insulare* のタイプ標本が示す形態とは明らかに一致しない。本研究において検討した結果、日本でレンガタケとして知られてきた本種はマツノネクチタケ属菌としての特徴をそなえているがこれまでに報告されたどの種とも一致しないので (Buchanan, 1988; Stalpers, 1996; Hattori, 2001)、マツノネクチタケ属の新種 *Heterobasidion orientale* として報告する。肉眼的観察上の差異に加えて、顕微鏡観察から明らかになった菌糸の特徴においてもレンガタケと *H. insulare* は異なっている。レンガタケの傘の肉の骨格菌糸はほぼ通直かつ平滑だが、*H. insulare* のタイプ標本では屈曲し波状となっている。レンガタケは *H. araucariae* およびカラナシレンガタケ (*H. ecrustosum*) と近縁であり、また、マツノネクチタケ (広義) のうちマツ属に対して強い宿主選択性をもつ Eur-P グループおよび NAm-P グループとも近縁で、これらがマツノネクチタケ属のなかで明確な 1 系統を形成することが分子系統分類学的手法により明らかになっている (Ota *et al.*, 2006)。レンガタケもしばしばマツ属樹木を宿主とし、1 年生で薄く小型の子実体、薄い殻皮、平滑で赤味を帯びた傘の表面、しばしば迷路状となる孔を有するという形態的特徴をもっている。

カラナシレンガタケ (*Heterobasidion ecrustosum*) は、1 年生の子実体、半円形で扁平～丸山型の傘、薄い傘肉 (厚さ 2.5

mm 以下)、殻皮をもたないかもしくは傘の基部付近にのみ殻皮をもつ、長い管孔 (長さ 10–20 mm)、大型で丸い孔 (1 mm あたり 2–3 個)、という形態的特徴をもつ。マツノネクチタケ属菌は通常、明瞭な殻皮をそなえており、傘表面上に明らかな殻皮をもたない同属菌としては、これまで *H. insulare* と *H. arbitrarium* (これら 2 種はそれぞれタイプ標本しか知られていない) のみが知られてきた。傘の特徴に加えて、カラナシレンガタケは日本と中国の温帯～亜熱帯からのみ知られていることから、北半球に分布する他のマツノネクチタケ属菌に比べると本種がより南方に分布域を持つ可能性が示唆される。*H. insulare* と *H. arbitrarium* は南アジアから得られたタイプ標本に基づいて記載されており、カラナシレンガタケと同様、南方の分布域を持っていると考えられる。しかし、カラナシレンガタケの肉は薄く、管孔が長いに対し、*H. insulare* のタイプ標本はより厚い肉と短い管孔をそなえる点で異なる。さらに、傘の肉の骨格菌糸を比べると、カラナシレンガタケではほぼ通直かつ平滑なのに対し、*H. insulare* のものは屈曲し波状を呈する。また、*H. arbitrarium* のタイプ標本はカラナシレンガタケに比べ、コルク質の傘の肉がより厚い、肉の厚さに比べて管孔が極端に短い、孔の大きさが若干小さい点で異なっている。

カラナシレンガタケと *H. araucariae* は分子系統分類学的に近縁であり (Ota *et al.*, 2006)、形態面においても長い管孔とほぼ規則的な孔をもつ点が共通している。しかし、カラナシレンガタケに比べると *H. araucariae* の傘はより大きく、長さ 34 cm、厚さ 8 cm にもなり、また、カラナシレンガタケは殻皮を欠くかもしくは基部にしかそなえないのに対し *H. araucariae* は明瞭な殻皮をもつという違いがある。さらに、*H. araucariae* の孔 (1 mm あたり 1–2 (–3) 個) の大きさは、カラナシレンガタケの孔 (1 mm あたり (1–) 2–3 (–4) 個) よりも大型である。また、*H. araucariae* は、頂端に突起をもつシスチジアをそなえるが、カラナシレンガタケはシスチジアをもたない。さらに、宿主や分布域が大きく異なる点においても、カラナシレンガタケと *H. araucariae* は区別することができる。

培養形態を比較すると、マツノネクチタケは東アジアに産するマツノネクチタケ属菌のなかでもっとも小型の分生子をもっている。ただし、各種が示す分生子サイズの変異幅は重なり、分生子サイズの違いだけで種を同定することは難しい。マツノネクチタケ (広義) の菌叢は、はじめ白色を呈したのちにオレンジ色を帯びた褐色～暗褐色に変化し、薄く茶褐色の皮革状の偽菌核により部分的に覆われることが Korhonen and Stenlid (1998) により報告されている。本研究で行った観察では、マツノネクチタケのヘテロカリオン菌株は部分的に褐色で皮革状となるが、レンガタケとカラナシレンガタケの菌叢は 6 週間培養しても白色～クリーム色のままで茶色味を帯びることはなかった。また、レンガタケの気中

表-4. マツノネクチタケ属菌の検索表 (Tokuda et al., 2009)
Table 4. Key to the world species of *Heterobasidion* (Tokuda et al., 2009)

1. 傘表面に殻皮をもたない, または, 殻皮は基部付近に限られる.....	2
1. 傘表面は周辺部を除き殻皮に覆われる.....	4
2. 孔は1 mmあたり3-4個, 肉は木質~コルク質で厚い, 管孔はきわめて短く, 肉の厚さよりもはるかに短い (Hattori, 2001).....	<i>H. arbitrarium</i>
2. 孔は1 mmあたり2-3個, 管孔の長さは肉の厚さを超える.....	3
3. 肉は薄く, 厚さ1-2.5 mm, 管孔の長さは肉の厚さの10倍以上となり周辺部でも長い, 管孔面辺縁の不稔部は通常ほとんどない, 孔は円形~角形, まれに迷路状. 傘の肉の骨格菌糸はほぼ通直で平滑, アジア産.....	<i>H. ecrustosum</i>
3. 上記に比べ肉が厚く, 厚さ3 mmほどになる, 管孔の長さは肉の厚さの3倍以下で周辺にむかって徐々に短くなる, 管孔面辺縁の不稔部は明瞭, 孔は円形. 傘の肉の骨格菌糸は波状.....	<i>H. insulare</i>
4. 孔は1 mmあたり1-2 (-3) 個, 円形~角形またはやや迷路状. 子実体はコルク質, 傘は大型で最大幅34cm, 厚さ8 cm程度, 背着生のときは幅50 cmほどにもなる. シスチジオールをもつ, 南半球に分布.....	<i>H. araucariae</i>
4. 孔は上記より小型, 円形~角形または迷路状. 子実体は皮革状~コルク質, 上記の傘ほど大きくならない, 北半球に分布.....	5
5. 担子胞子は大きい, 5.7-7.8×4.1-6.1 μm, シスチジオールをもつ. 孔は1 mmあたり2-4個, 中国に産する (Dai et al., 2007b).....	<i>H. linzhienae</i>
5. 担子胞子は小さい, 平均5 × 4 μm以下.....	6
6. 孔は1 mmあたり3-5 (-7) 個, 規則的に分布, 傘表面にはいくらか軟綿毛がある, もしくはほぼ無毛で平滑, 褐色~暗褐色, 明瞭な殻皮をそなえる.....	<i>H. parviporum</i>
6. 孔は1 mmあたり2-3個, 規則的~または乱れる.....	7
7. 傘表面は無毛で平滑, 赤褐色で縁が白い, 周縁部を除き薄い殻皮に覆われる. 孔は角形から円形, しばしば迷路状. 通常, モミ属, トウヒ属, マツ属など針葉樹の伐根や倒木上に発生する, アジア産.....	<i>H. orientale</i>
7. 傘表面には軟綿毛をそなえる~もしくはほぼ平滑, 褐色~暗褐色, 明瞭な殻皮をもつ.....	8
8. 傘表面の軟綿毛が短い (長さは平均20.9 μm). しばしばマツ属や, 広葉樹を含むその他多くの樹木類に深刻な根株腐朽被害を起こす.....	<i>H. annosum</i>
8. 傘表面の軟綿毛の長さは変化に富むが, <i>H. annosum</i> より長い (長さは平均54.8 μm). モミ属に根株腐朽被害を起こす.....	<i>H. abietinum</i>

菌糸は豊富で厚く羊毛状となるが, マツノネクチタケとカラナシレンガタケの気中菌糸はより少なく, この2種の培養菌叢には少なくとも部分的には薄い部分があって透光性が保たれ続けるという特徴をもつ。

これら形態的特徴を検討した結果から, 本研究では, 東アジア産マツノネクチタケを*H. parviporum*とする。加えて, レンガタケ (*H. orientale*) とカラナシレンガタケ (*H. ecrustosum*) を*Heterobasidion*属菌の新種と認め, 合計9種を同属菌としてみなす。本研究により得られた結果と既存の記載から作成した*Heterobasidion*属菌の検索表を表-4に示す。

第3章 トドマツ人工林で確認されたマツノネクチタケ被害

3-1 はじめに

北半球において, 林木の根株腐朽病原菌として特に重要視され, 各国の大学や試験場において集中的な研究がなされているものに, マツノネクチタケ *Heterobasidion annosum* s.l. (広義) がある。ヨーロッパに産するマツノネクチタケ (広義) 3種のうち, ヨーロッパアカマツを主な宿主とする *H. annosum* s.s. はもっとも強い病原性を持っており, あらゆる林齢のヨーロッパアカマツ林で枯死被害を引き起こす (Benz-

Hellgren *et al.*, 1998)。さらに本菌はヨーロッパアカマツ以外の多くの針葉樹や広葉樹にネクロシスを起こし (Daniel *et al.*, 1998; Krokene *et al.*, 2001; Johansson *et al.*, 2004; Asiegbu *et al.*, 2005; Bodles *et al.*, 2007), 枯死被害をもたらす。一方, ヨーロッパトウヒを主な宿主とする *H. parviporum* は, ヨーロッパからアジアにかけて広い地域に分布する (Korhonen *et al.*, 1998a; Dai *et al.*, 2003, 2006)。宿主樹種が多い *H. annosum* s.s. とは対照的に, ヨーロッパにおける *H. parviporum* の宿主選択性はヨーロッパトウヒにかなり限定されており, ヨーロッパの大部分の地域ではヨーロッパトウヒ以外の自生種に対して枯死被害を起こさない (Korhonen, 1978)。ヨーロッパから報告された3番目の種 *H. abietinum* は南～中央ヨーロッパのモミ属自生地に分布し, ヨーロッパモミを主な宿主としているが, 他の樹種に感染することもある。北米産マツノネクチャケ (広義) 2種のうち, *H. irregulare* はマツ類を主な宿主としており, アメリカ合衆国西部～南東部にかけてのマツ類人工林における重要な病原菌である。一方, 北米産の *H. occidentale* は宿主に対しての高い選択性をもっていない (Korhonen *et al.*, 1998a)。

日本国内には第2章で明らかにしたとおりマツノネクチャケ属菌3種, すなわち, マツノネクチャケ, レンガタケ, カラナシレンガタケが分布する。国内におけるマツノネクチャケの分布は北海道と本州の亜高山帯に限定されており (伊藤, 1955; 小野・横田, 1959; 徳田, 2010, 徳田・小野寺, 2011), 欧米とは異なり日本では同菌による被害がそれほど顕在化していない。しかし, 亀井・星 (1948) が北海道の天然林でマツノネクチャケによる被害を報告して以降, トドマツ, アカエゾアマツ, エゾマツにおける同菌の被害が数事例報告され (今関・青島, 1955b; 佐々木・横田, 1955; 青島ほか, 1977; 徳田・小野寺, 2011), 北海道の天然林ではマツノネクチャケによる根株腐朽被害が著しいことが知られている (亀井・星, 1948; 今関・青島, 1955b; 徳田, 2010)。一方, 北海道では大面積のトドマツ人工林が造成されてきたにもかかわらず, トドマツ人工林におけるマツノネクチャケ被害の報告は佐々木ほか (1983) による25年生林分についての1例しかない。

日本ではマツノネクチャケの子実体が形成されにくいいため, 上述の被害報告においては被害木の腐朽型, もしくは腐朽型と培養菌株の形態によってのみ, 病原菌がマツノネクチャケであると判断されてきた (亀井・星, 1948; 亀井, 1953; 小野, 1954; 今関・青島, 1955b; 佐々木・横田, 1956; Yokota, 1956; 横田, 1957, 1959; 青島ほか, 1977; 佐々木ほか, 1983)。しかし, マツノネクチャケの培養時に示される形態的特徴はレンガタケのそれと非常によく似ているので, 分離菌株の培養形態による識別だけでは両者を間違える可能性がある (亀井・星, 1948; Stalpers, 1974)。また, 本研究以前になされた報告はいずれも分子系統解析的手法による病原菌の確認をしておらず, 被害を起こしているマツノネクチャケがマツノネクチャケ

(広義) のうちの種にあたるのかを明らかにしていない。

そこで本研究では, これまで厳密な種の確認がなされてこなかった国内におけるマツノネクチャケによる林木の根株被害の発生状況を明らかにし詳細な被害報告を行うために, 激しい根株腐朽被害が発生していた68年生トドマツ人工林被害地における現地調査と分離菌株のDNA解析, および培養菌叢の形態観察を行った。

3-2 材料と方法

3-2-1 調査地概況および現地調査

現地調査は, 北海道浦幌町にある68年生トドマツ人工林 (北海道十勝総合振興局森林室312林班, 北緯43° 8' 14", 東経143° 45' 40", 図-8) で行った。この調査地は, 標高440 m, やや急峻 (平均23°) な北西向きの斜面に位置していた。土壌型は適潤性の褐色森林土で, この地域は小起伏山地に属していた (土じょう部, 1976)。白亜紀泥岩でできた基岩までの深さは約90 cmで, 各層は十分な湿度を保っており, 土性は埴壤土だった。調査対象とした林分はこの場所に造成した最初の人工林であり, 2000年10月に皆伐された。人工林になる前の森林植生は, この地域の典型的な天然林と同様であったと推測される。すなわち, トドマツやアカエゾマツなど亜高山性の常緑針葉樹とミズナラ (*Quercus crispula* Blume), シラカンバ (*Betula platyphylla* Sukaczew var. *japonica* (Miq.) H. Hara), エゾイタヤ (*Acer pictum* Thunb. subsp. *mono* (Maxim.) H. Ohashi) などといった冷温帯性落葉広葉樹からなる針広混交林であった可能性が高い (北海道林務部, 1976; 館脇・五十嵐, 1977)。なお, 調査地周辺では, 深刻な根株腐朽被害の誘因となりうる地滑りや風倒被害が過去に発生した明らかな痕跡は確認され

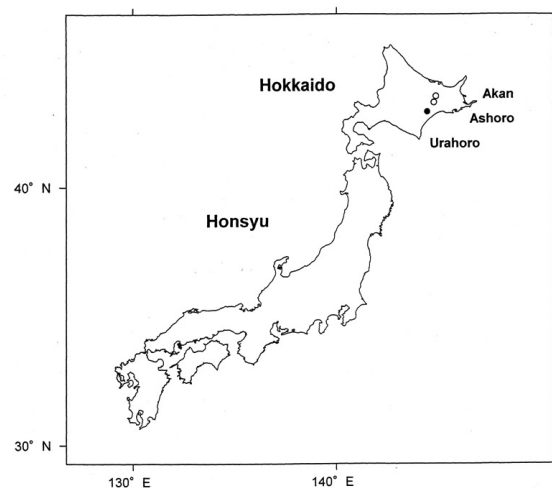


図-8. 調査地位置図。●, 68年生トドマツ人工林; ○, マツノネクチャケ子実体採集地 (Tokuda *et al.*, 2007)

Fig. 8. Map of Japan showing the location of study sites. ●, 68-yr-old Todo fir plantation; ○, Locality of *H. annosum* basidiocarps collected (Tokuda *et al.*, 2007)

なかった。

2002年10月に35×30 mのプロットを調査林分内に設定し、プロット内にあるすべての伐根の数、および腐朽している伐根の数を調べた。腐朽の状況を調べるために腐朽伐根の上部をチェーンソーを用いて切断し、現れた新鮮な切断面を観察して、腐朽材の色や形状などといった特徴を調べた。腐朽材の硬さを、伐根表面をポケットナイフで削る、または指の間で腐朽材を押しつぶすことにより測定し、また、腐朽が心材または辺材のいずれに発生しているかを記録した。伐根上面における腐朽部の長径および短径を測定し、伐採面に占める腐朽部の面積を計算した。本研究では、伐根上に観察できる腐朽部であっても、樹幹腐朽に起因する腐朽は調査の対象外とした。それらの腐朽は、伐採面では腐朽段階がそれほど進んでおらず、また、伐根の下部へ向かうにつれて被害部が減少していたので、根株腐朽とは容易に識別できた。

3-2-2 病原菌の分離、培養形態

病原菌の分離は、黄色味がかかったオレンジ色～淡褐色を呈し、もっとも優占していた腐朽型を示した被害木を対象に行った。各腐朽伐根からは、腐朽菌分離の材料として厚さ25 cmの円盤を採取した。これら材料を実験室に持ち帰り、各円盤から腐朽部の材片を作成し、表面を火炎滅菌した。材片内部から材小片(約5×5×5 mm)を切り出し、2% (w/v) 麦芽寒天培地上に置床した後、20℃暗黒下で培養し、約2週間の間に出現した担子菌の菌株を再分離して、培養形態の記載およびDNA解析に用いるためにそれらを保存した。比較検討に用いた日本産マツノネクタケ子実体の菌株は、北海道足寄町もしくは阿寒町のトドマツ枯死木、アカエゾマツ枯死木上に発生していた子実体から分離した。

本研究で得られた分離菌株は、2% (w/v) 麦芽寒天培地に

接種し、20℃で4週間培養した後、Nobles (1965) および Stalpers (1978) に基づいて培養菌叢の特徴を記載した。細胞外酸化酵素活性は、Nobles (1958), Käärik (1965) に基づいて確認した。被害地腐朽材から分離された菌株: HF437, HF438, HF439, HF441, HF442, HF445, HF446, HF447 (表-5) について、培養形態を調べた。子実体から分離したマツノネクタケの菌株: HF401, HF407, HF413, HF431についても同様の調査を行い、腐朽材由来菌株との比較を行った(表-5)。本研究で用いた菌株は、NIASジーンバンクもしくは森林総合研究所微生物生態研究室菌株庫、北海道立総合研究機構林業試験場微生物実験室菌株保管庫に保管されている。

3-2-3 DNA解析

供試菌株とDNA抽出

DNA解析には、腐朽材から分離した3菌株(HF437, HF438, HF439)と日本産マツノネクタケ子実体から分離した8菌株(HF401, HF403, HF407, HF413, HF419, HF421, HF424, HF431)を試料として用いた(表-5)。DNA抽出は、MYG液体培地(2% (w/v) 麦芽抽出物, 0.2% (w/v) 酵母抽出物, 2% (w/v) グルコース)を用い、25℃暗黒下で1週間培養した菌糸体から行った。DNAは、DNeasy plant mini kit (Qiagen, Chatsworth, CA, USA)を用いて行った。3種類の核遺伝子フラグメント: glyceroldehyde 3-phosphate dehydrogenase (gpd), heat shock protein80-1 (hsp), elongation factor 1- α (ef) を遺伝子マーカーとして用いた。本研究で使用したオリゴヌクレオチドプライマーは、Johannesson & Stenlid (2003) により報告されたものである。PCR反応液(10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 μ M 各プライマー, 2.5 mM dNTP, Takara taq (0.5 U) (Takara, Yokyo, Japan)) に抽出したDNA 10 ngを鋳型として添加し、総量を20 μ Lとした。Perkin-Elmer

表-5. 解析に使用したマツノネクタケ属菌の菌株一覧 (Tokuda *et al.*, 2007)

Table 5. *Heterobasidion* isolates used in this study (Tokuda *et al.*, 2007)

Isolate	Location	Host	Isolating source substrate	NIAS	Genbank accession no.		
				genebank no.	gpd	hsp	ef
HF401	Ashoro, Hokkaido	AS	basidiocarp tissue	MAFF420761	AB255484	AB255513	AB255543
HF403	Ashoro, Hokkaido	AS	basidiocarp tissue	MAFF420762	AB255485	AB255514	AB255544
HF407	Ashoro, Hokkaido	AS	basidiocarp tissue	MAFF420763	AB255486	AB255515	AB255545
HF413	Ashoro, Hokkaido	AS	basidiocarp tissue	MAFF420764	AB255487	AB255516	AB255546
HF419	Akan, Hokkaido	AS	basidiocarp tissue	MAFF420765	AB255488	AB255517	AB255571
HF421	Akan, Hokkaido	AS	basidiocarp tissue	MAFF420766	AB255467	AB255522	AB255572
HF424	Akan, Hokkaido	AS	basidiocarp tissue	MAFF420767	AB255489	AB255518	AB255573
HF431	Akan, Hokkaido	PG	basidiocarp tissue	MAFF420768	AB255490	AB255519	AB255574
HF437	Urahoru, Hokkaido	AS	decayed wood	MAFF420769	AB255581	AB255577	AB255578
HF438	Urahoru, Hokkaido	AS	decayed wood	MAFF420770	AB255582	AB255584	AB255579
HF439	Urahoru, Hokkaido	AS	decayed wood	MAFF420771	AB255583	AB255585	AB255580
HF441	Urahoru, Hokkaido	AS	decayed wood	—	—	—	—
HF442	Urahoru, Hokkaido	AS	decayed wood	—	—	—	—
HF445	Urahoru, Hokkaido	AS	decayed wood	—	—	—	—
HF446	Urahoru, Hokkaido	AS	decayed wood	—	—	—	—
HF447	Urahoru, Hokkaido	AS	decayed wood	—	—	—	—

* AS, *Abies sachalinensis*; PG, *Picea glehni*

DNA thermal cycler (9800) または BIO-RAD iCycler を用いた PCR 反応条件は、最初に 94℃・5 分間変性処理を行った後、94℃・1 分間 (変性)、50-56℃・30 秒間 (アニーリング)、72℃・30 秒間 (伸長) の 3 行程を 35 サイクル、最後に 72℃・7 分間 (伸長) とした。得られた PCR 産物を MicroSpin Columns および Sephacryl S-300 (Amersham Biotech, Little Chalfont, UK) を用いて精製し、シーケンス反応のテンプレートとした。シーケンスは、BigDye Terminator cycle sequencing FS Ready Reaction Kit および Applied Biosystems 3100 sequencer (Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を用いて両方向から行った。

データ解析

得られた DNA フラグメントの塩基配列データは GenBank に登録した (表-5)。被害地菌株との比較に用いたヨーロッパ、北米、中国産マツノネクチタケ (広義) のシーケンスデータは、GenBank から取得した。得られた各菌株のシーケンスデータは、Clustal X (Jeanmougin *et al.*, 1998) を用いて整列させた後、手動で編集した。本研究で得られたアラインメントデータは TreeBASE (<http://www.treebase.org/treebase/>) に保存されている。登録番号は No.SN2836 である。分子系統解析には、疑わしいアラインメントを外し、明瞭なもののみを使用した。系統関係の推定および系統樹の作成は、PAUP var. 4.0b (Swofford, 2001) を用いて、距離法と最節約法で行った。距離法では、近隣結合法 (NJ法) を採用し、進化距離を HKY 85 モデルで計算した。最節約法 (MP法) での系統樹

作成は、発見的探索法により行い、配列の付加順序が結果の系統樹の樹形に影響するのを最小限にするために、サンプルの付加順序をランダムにし、それを 100 回繰り返した。このとき、TBR 分枝交換の条件下で、演算の設定を、MulTrees コマンド: on, MaxTrees 設定: 100, zero length branches: collapse とし、また、すべての形質を等価に扱った。アウトグループには、マツノネクチタケ (広義) の Eur-P グループ、NAmp-P グループのシーケンスデータを用いた (Johannesson and Stenlid, 2003)。また、得られた系統樹の分岐の信頼性を評価するために、1,000 回反復による分岐のブートストラップ確率 (Felsenstein, 1985) を算出した。

3-3 結果

3-3-1 根株腐朽被害の程度と病徴

調査プロット内には伐根 57 個が存在し、そのうち 27 個 (47.4%) に明らかな根株腐朽被害が確認された。もっとも優占し、かつ、深刻だった腐朽タイプはこれら 27 個のうち 14 個 (51.8%) で認められた。この腐朽はやや黄色味がかかったオレンジ色を呈しており、腐朽程度が進行したものでは白色化した材や白色の菌糸が詰まった細長い空隙が発達し、通常、材は湿っていた (図-9)。腐朽材の周囲には、しばしば淡灰色～ピンク色がかかった変色のみられた。腐朽が進行した腐朽材は繊維状に分解され、指で簡単に剥がせるほど柔らかくなり、最終的には腐朽した心材部が空洞となっていた。腐朽は根や樹幹根際から進行し、樹幹上部へも広がっていた。腐朽部のほとんどは心材に限られていたが、しばしば、形成されてか



図-9. マツノネクチタケによる進行した腐朽 (トドマツ被害木の伐根) (Tokuda *et al.*, 2007)

Fig. 9. Advanced decay caused by Japanese *Heterobasidion annosum* s.l. on the surface of a *Abies sachalinensis* stump (Tokuda *et al.*, 2007)

ら年数が経過し活性が低下した古い辺材部へも広がっていた。また、健全な心材の外側に腐朽材が同心円状に広がっていることもあった。伐根上面で測定した腐朽直径は約2~45 cmだった。被害伐根の年輪は、トドマツが高齢になっても衰退しておらず中程度の直径成長を伐採前まで行っていたことを示しており、また、調査プロット周辺の森林においてもトドマツの枯死や衰退は観察されなかった。

3-3-2 培養形態

腐朽材から分離した菌株の培養形態

菌叢の成長はやや速く、シャーレは2週間以内に覆われる。周縁部は全縁、菌糸はまばらで倒伏し白色。培養4週間以内の菌叢は白色~黄白色、4週間以上でときとして部分的に淡褐色、培養2週間以内はうぶ毛状~綿状、のちにややフェルト状~部分的に綿状、通常、粉っぽい。においは不明瞭。シャーレを裏からみると、変化しないままか、もしくは菌糸膜の下部で部分的に暗色。子実層托は培養6週間以内に形成されない。コロニー周縁部の菌糸：生殖菌糸は無色、薄壁で分岐する、径1.5-4.5 μm 、クランプコネクションはまれ、比較的幅が広く通直な菌糸上で見つけやすい。気中菌糸：生殖菌糸は無色、薄壁、径2-5.5 μm 、クランプコネクションはまれ。分生子柄は菌糸から直立し、枝分かれしない、もしくは分岐する、無色、頂端は円形で膨らみ、径7.5-15 μm 。分生子は豊富に形成される、平滑、単胞、壺球形~卵形、無色、3-8.5 \times 2.5-7 μm (平均6.0 \times 4.8 μm)。

細胞外酸化酵素活性：グアヤク脂+, α -ナフトール+, チロシン-。Nobles (1965) のキーコード：2, (5), (6), 7, 33, 36, 38, 42, (47), 55。Stalpers (1978) のキーコード：1, 7, (8), (9), (12), 13, (14), 17, 18, 21, 24, 30, 31, (38), (39), (40), (45), 52, 53, (54), 86, 87, 90。

日本産マツノネクチタケ子実体から分離した菌株の培養形態
成長速度と菌糸の特徴は腐朽材から分離した菌株と一致した。分生子 3-10.5 \times 2-8 μm (平均5.2 \times 4.0 μm)。

細胞外酸化酵素活性：グアヤク脂+, α -ナフトール+, チロシン-。Nobles (1965) およびStalpers (1978) のキーコードは、被害木腐朽材から分離された菌株が示したキーコードと一致した。

3-3-3 DNA解析

解析対象としたすべての遺伝子座は順調に増幅され、シークエンスがなされた。PAUP var. 4.0b のpartition homogeneity tests を行った結果、3領域の間で強い矛盾は検出されず、これらを統合することが可能であることがわかったので ($p \geq 0.01$)、3領域 gpd, hsp, ef のデータを統合して解析した。結合した gpd, hsp, ef のデータから得られたアラインメントされた 1230bp の塩基配列には、31 の情報をもたない可変部位

と96の節約法情報部位が存在していた。3部位の情報を結合させたデータセットを用いて行った節約法の解析からは、153ステップで唯一一つのMP系統樹が作成され、一致指数(CI)は0.9216であった(図-10)。腐朽材から分離した菌株と日本産マツノネクチタケ子実体から分離した菌株はひとつのクレードに含まれ、高いブートストラップ値で支持されて他の集団とは明確に分かれた(ブートストラップ値=100%)。この日本産マツノネクチタケは、Eur-Sグループ(*H. parviporum*)と明らかな姉妹クレードをつくっていた(ブートストラップ値=100%)。一方、NAm-SグループとEur-Fグループ(*H. abietinum*)はそれぞれ他とは明確に区別される個別のクレードをつくっていた(ブートストラップ値=100%)。なお、塩基配列データから作成されたMP系統樹とNJ系統樹は同じ形だった。

3-4 考察

マツノネクチタケ(広義)の菌糸の特徴については、Nobles (1965)とStalpers (1978)が概要を報告している。本研究で得られたトドマツ腐朽材から分離した菌株の培養特性は、彼らが報告した特徴および日本産マツノネクチタケ子実体から得られた菌株の特徴と一致していた。亀井・星(1948)は日本産マツノネクチタケと日本産レンガタケの培養特性を比較し、マツノネクチタケの分生子(3.5-7 \times 2.5-4.5 μm (平均4.9 \times 3.8 μm))がレンガタケの分生子(5-9 \times 3-6 μm (平均6.7 \times 4.4 μm))よりも小型であり、この差異が両者を識別するもっとも明確な特徴であることを報告した。一方、マツノネクチタケ(広義)の各グループ間では、培養菌糸の形態に明らかな違いはない(Mitchelson and Korhonen, 1998)。

3遺伝子領域のデータから作成したMP系統樹では、被害地の腐朽材から分離された菌株と日本産マツノネクチタケ子実体由来の菌株が信頼性の高い同一のクレードに属していることが明らかとなった。また、これら日本産菌株はEur-Sグループ(*H. parviporum*)と姉妹クレードをつくっていた。以上のことから本研究では、トドマツ腐朽材から分離されたマツノネクチタケ属の菌株が日本に産するマツノネクチタケと同種であると結論づける。そして、この日本産マツノネクチタケはEur-Sグループ(*H. parviporum*)と分子系統解析上、完全には一致しないものの、両者は非常に近縁であるといえる。一方、Dai *et al.*, (2003)も交配試験に基づき、トドマツ腐朽材から分離された日本産マツノネクチタケ3菌株がEur-Sグループと近縁であることを報告している。彼らはこの報告のなかで、中央~東アジアから得られたマツノネクチタケ(広義)の菌株のほとんどがEur-Sグループ、そしてさらにNAm-Sグループ、Eur-Fグループ(*H. abietinum*)と高い和合性を持つことを明らかにした。地理的な配置と分子系統解析上の関係を考慮すると、マツノネクチタケ(広義)の東アジア産系統はマツノネクチタケ(広義)の進化と分散を解明する鍵に

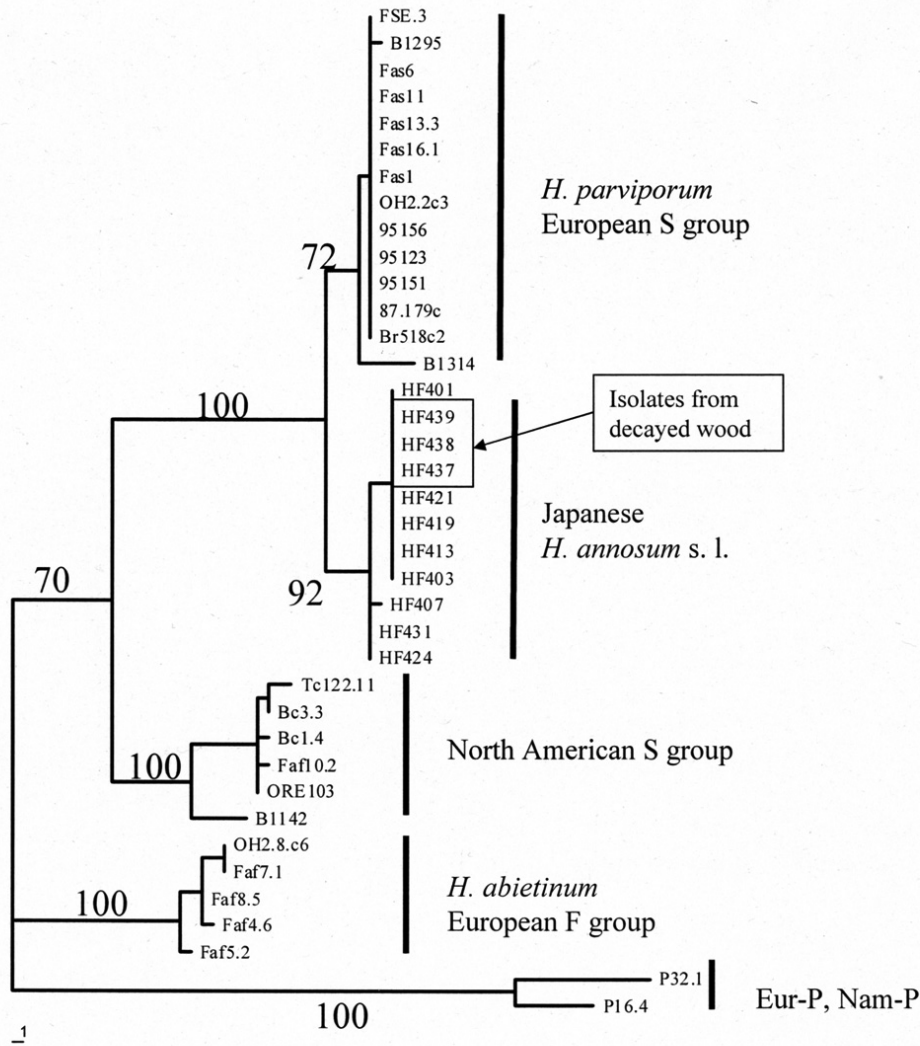


図-10. 3 遺伝子領域 (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, heat shock protein 80-1, elongation factor 1-alpha) の結合データから作成した日本産マツノネクチタケの最節約系統樹 (Length =1230, CI=0.9216, RI=0.9755). 70%より大きいブートストラップ値を各内部枝に示した (Tokuda *et al.*, 2007)

Fig. 10. The most parsimonious tree based on the combined dataset of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, heat shock protein 80-1 and elongation factor 1-alpha gene loci for *Heterobasidion annosum* sensu lato. (Length =1230, CI=0.9216, RI=0.9755). Bootstrap values greater than 70% are indicated along node (Tokuda *et al.*, 2007)

なると考えられる

マツノネクチタケ (広義) に含まれる各グループの木材腐朽菌は、それぞれ、宿主選択性と宿主に対する被害の程度が異なっている (Korhonen, 1978; Capretti *et al.*, 1990)。これまでになされた野外調査、接種試験、生化学的研究によると、Eur-SグループはEur-Pグループよりも病原性が弱いとされる (Korhonen, 1978; Swedjemark and Stenlid, 1995; Daniel *et al.*, 1998; Johansson *et al.*, 2004)。Eur-Sグループはヨーロッパでは通常、ヨーロッパトウヒを宿主としており本樹種に根株腐朽を引き起こすが、まれに若いヨーロッパトウヒを枯死させることもある (Korhonen, 1978; Swedjemark and Stenlid, 1993)。また、Korhonen (1978) によれば、Eur-Sグループはヨーロッパトウヒ林跡地に植栽されたヨーロッパアカマツの苗木を枯

死させることもあるが、他の自生種や大きく成長したマツ属を枯死させることはまれである。ヨーロッパ以外の地域ではEur-Sグループのヨーロッパトウヒに対する宿主選択性は弱くなり、トウヒ属とモミ属に属するさまざまな樹木を宿主とする。また、通常、本菌は天然林内に生育する自生種に対しては強い病原性をもたない。例外はシベリアモミで、本樹種の感受性は非常に高い (Korhonen *et al.*, 1997; Dai and Korhonen, 1999)。NAm-Sグループは老齢林で根株腐朽被害を起こすが、ときとして感染林分に生育する若齢木を枯死させることもある (Morrison and Johnson, 1999)。Eur-Pグループの主な宿主はヨーロッパアカマツであるが、本菌はSグループに比べて多くの樹種を宿主としている。ヨーロッパアカマツ以外にもこの菌が枯死させる針葉樹は多く、しばしば広葉

樹をも枯死させることもある (Korhonen *et al.*, 1998a ; Rönnerberg *et al.*, 1999)。ヨーロッパに産するマツノネクチタケ (広義) の第3の種Fグループはモミ属樹種を宿主としこれらに対する病原性もしくは腐生性をもつ腐朽菌である (Korhonen *et al.*, 1998a ; Lakomy and Werner, 2003)。

日本産マツノネクチタケの病原性は今のところよくわかっていないが、国内では本菌による枯死被害はこれまで一切報告されていない。今関・青島 (1955a) は、本菌に感染した樹木は枯死することなく生き残り、強風によってときどき倒れていくことを示唆している。今回行った観察では、腐朽木の年輪幅はよく発達していて健全木のそれと変わらなかった。また、調査地では本菌による根株腐朽被害の発生が顕著であったにもかかわらずプロット内やその周辺で樹木衰退の兆候はなかった。それゆえ、これらのことから、日本産マツノネクチタケはトドマツに対し、枯死被害をもたらすような強い病原性をもたないことが推測される。日本産マツノネクチタケはしばしば壮齢以降のトドマツに根株腐朽をもたらすものの、宿主の衰退や枯死を引き起こすことはないといえよう。

マツノネクチタケ (広義) によって起こる腐朽は、腐朽段階の後期に小孔が形成される白色腐朽である (Greig, 1998)。トドマツ被害木上で観察される十分に進行した腐朽材も、白色の菌糸が詰まった小孔を形成する (亀井・星, 1948 ; 小野・横田, 1959)。腐朽が進んだ他の樹種上でしばしば観察される黒色の小点は、トドマツでは形成されない。亀井・星 (1948) も、トドマツ腐朽材上ではこの黒点を観察できなかったが、アカエゾマツ上では確認している。マツノネクチタケ (広義) の腐朽材は宿主の樹種によって変化が大きいことが知られている (Greig, 1998)。ヨーロッパトウヒでは青色がかかった色調もしくは灰色、ヨーロッパモミでは灰褐色となる。トドマツでは、腐朽の初期には暗灰色～紫がかかった灰色の変色が観察されることが、小野・横田 (1959) により報告されている。今回の観察では、しばしば紫～淡紫色を帯びた淡灰色の変色がトドマツ伐根上に認められた。腐朽初期における腐朽材の色は、樹種や宿主の状態によって変化するのであろう。

調査プロット内で優占していた根株腐朽菌はマツノネクチタケであったが、北海道ではマツノネクチタケの他にも多くの木材腐朽菌がトドマツに根株腐朽を引き起こす菌として知られている。オニナラタケ (*Armillaria ostoyae* (Romagnesi) Herink), ミヤマトンビマイ (*Bondarzewia montana* (Quél.) Singer), エゾタケ (*Climacocystis borealis* (Fr.) Kotl. et Pouzar), エゾノサビイロアナタケ (*Phellinus weirii* (Murrill) Gilb.), マスタケ (*Laetiporus montanus* Cený ex Tomsovský et Jankovský, 注: マスタケとその近縁種については最近、分類学的再検討が行われた (Ota and Hattori, 2008 ; Ota *et al.*, 2009)。過去に北海道の針葉樹から記録された *Laetiporus sulphureus* s.l. はマスタケの仲間のうち、針葉樹型である本菌であると考えられる), レンゲタケ (*Oligoporus balsameus* (Peck) Gilb. et

Ryvarden), シミガタセンバイタケ (*Oligoporus guttulatus* (Peck) Gilb. et Ryvarden), キンイロアナタケ (*Perenniporia subacida* (Peck) Donk), カイメンタケ (*Phaeolus schweinitzii* (Fr.) Pat.), ハナビラタケ (*Sparassiss crispa* Wulf.: Fr.) の子実体発生がトドマツ生立木で記録されている (亀井, 1951 ; 今関・青島, 1955b ; 亀井・五十嵐, 1959 ; 今関, 1965 ; Ota *et al.*, 1998)。これらの多くは普通種であり、日本の温帯域に広く分布している。一方、マツノネクチタケは、国内では稀な種であり、本州中部以北に位置する亜高山帯の限られた地域からのみ知られているにすぎない。北海道中央部にある大雪山系と北海道東部にある阿寒湖周辺は、マツノネクチタケの子実体が頻繁にみつき、また、同菌による著しい被害が報告された国内唯一の場所である。これら両地域は国立公園内に位置し、針葉樹を主体とした原生的な森林が良好な状態で維持されている。こうした過去の発生記録や被害記録から推察すると、日本産マツノネクチタケは針葉樹老齢林に依存しており、さまざまな森林タイプにおける普通種であるヨーロッパや北米の系統とは異なる生態的特徴を持つ可能性がある。しかし、東アジアのマツノネクチタケ (広義) について分布や生態を論じるには、今後のさらなる研究が必要である。

第4章 68年生トドマツ人工林におけるマツノネクチタケのジェネット分布と伝播法

4-1 はじめに

森林被害をもたらす樹木病原菌についての理解を深め、被害軽減に向けた防除対策を森林施業の現場で実施するためには、まず、対象となる病原菌の種を明らかにするとともに、被害地における菌の生態を知る必要がある。森林を対象とした病害防除は、病原菌の伝染環を把握し、それをなんらかの方法で遮断することによって可能となるからである。マツノネクチタケ (広義) の伝播機構についてはヨーロッパおよび北米で詳しく調べられており、主に、(i) 大気中を浮遊する担子孢子によって拡散し、間伐によって生じた新鮮な伐根の伐採面に付着、発芽して菌糸を伸ばし (Rishbeth, 1951, 1957 ; Sánchez *et al.*, 2007), (ii) 木部に定着してから宿主の水平根へと広がり、樹木の根同士の接触を通じて隣の木へ伝播していく (Stenlid, 1985 ; Morrison and Redfern, 1994 ; Stenlid and Redfern, 1998 ; Garbelotto *et al.*, 1999), というサイクルによって被害が広がることが明らかとなっている。こうした伝染環は、直接的な観察のほか、被害地における病原菌個体群の遺伝的構成の解析により明らかにされてきた。

被害地で識別された木材腐朽菌ジェネットが示す空間分布および遺伝的特徴は、病原菌の伝播機構を知る上での重要な情報を持っている。海外では、マツノネクチタケのジェネットは体細胞不和合性試験により簡単に識別できるので (Stenlid, 1985, 1987 ; Piri *et al.*, 1990 ; Swedjemark and Stenlid,

1993, 2001; Piri, 1996; Vasiliauskas and Stenlid, 1998; Piri and Korhonen, 2001, 2007, 2008), ナラタケ類のジェネット調査で用いられるRAPD解析 (Guillaumin *et al.*, 1996; Dettman and Kamp, 2001) などといった分子生物学的手法は同菌に対して不要であるとされている (Stenlid, 1985)。一方, 近年, これらの手法に加えて, 木材腐朽菌の遺伝的特徴とジェネット構造を調査するためのもっとも強力な分子系統学的手法として, マイクロサテライト解析やミニサテライト解析が行われている (Johannesson and Stenlid, 2004; Worrall *et al.*, 2004; Dart *et al.*, 2007; Zamponi *et al.*, 2007)。しかし, 日本では, いずれの手法によってもマツノネクチタケのジェネット分布が調査された事例はない。

海外では, 主に孢子分散によるマツノネクチタケの感染拡大が一般的なもので, これを防ぐことを目的とした防除法がいくつも開発され, すでに実用化されている (Holdenrieder and Greig, 1998; Korhonen *et al.*, 1998b; Pratt, 1998; Pratt *et al.*, 1998a, 1998b; Lehtijärvi *et al.*, 2010)。けれども, 日本のマツノネクチタケの生態および伝播経路に関する情報はこれまでほとんど得られておらず, 国内のものは海外とは異なる感染拡大を行っている可能性がある。海外で用いられている防除法が国内のマツノネクチタケに対して有効だという保証はない。よって, 海外で開発された防除法の導入を図る前に日本産マツノネクチタケの伝播法を明らかにし, そのうえで改めて最適な防除法を検討する必要がある。そこで本研究では, 北海道の林業で重要な位置を占めるトドマツ人工林におけるマツノネクチタケの伝播法を明らかにするために, 68年生トドマツ人工林被害地における同菌ジェネットの空間分布と遺伝的多様性の調査を, (i) 体細胞不和合性試験, (ii) RAPD解析, (iii) マイクロサテライト解析により行った。

4-2 材料と方法

4-2-1 調査地概況および現地調査

調査は, 北海道浦幌町にある68年生トドマツ人工林 (北海道十勝総合振興局森林室312林班, 北緯43° 8' 14", 東経 143° 45' 40", 図-8) で行った。この林分は, 最近, マツノネクチタケによる激しい根株腐朽被害が確認された場所である (第3章, Tokuda *et al.* 2007)。調査したトドマツ人工林は, 1930年に山火事が発生した場所に1933年にトドマツが植栽されたもので, 2000年10月に皆伐がなされた。植栽密度は2500~3000本/haであった。植栽されたトドマツの密度は数回の間伐により徐々に減少していき, 1978年以降はヘクタールあたり1000本以下となった。人工林ができる前の植生は, この地域の天然林と同様, トドマツ, アカエゾマツなど亜高山性針葉樹とミズナラ, シラカンバ, エゾイタヤなど冷温帯性広葉樹の混交林であったと推測される (北海道林務部, 1976; 館脇・五十嵐, 1977)。

2002年秋, 調査林分内の南西向き斜面に60×100 mのプロ

ットを設定した。プロットは, 根株腐朽菌のジェネット拡大を妨げる可能性のある作業道や河川, 尾根筋などといった障害物を含まない平滑な斜面で, かつ, 調査林分内で最大の大きさのプロットを設定できる場所を選んで設定した。プロット内に存在する皆伐時にできたトドマツ伐根すべてに番号をつけ, それらの位置をハンディ GPS機器 (Pathfinder Pro XR GPS / Beacon Receiver; Trimble, Sunnyvale, CA, USA) と gps pathfinder office ver. 2.80ソフトウェア (Trimble, Sunnyvale, CA, USA) を用いて測定した。マツノネクチタケ分離用試料として2002, 2003および2004年に, 明らかに伐採前から存在していたと推察されるよく発達した腐朽部をもつ伐根それぞれから, 厚さ約25 cmの円盤をチェーンソーを用いて採取した。また, 各伐根について, マツノネクチタケ子実体発生の有無を確認した。

4-2-2 マツノネクチタケの分離

採取したトドマツ円盤を実験室に持ち帰り, 各円盤の中央付近にあるもっとも大きなよく発達した腐朽部から腐朽材片を作成し, 表面を火炎滅菌した後, 内部から材小片 (約 5 × 5 × 5 mm) を切り出した。材小片を火炎滅菌により表面殺菌した後, 2%麦芽寒天平板培地 (MEA: 麦芽抽出物20 g (Kanto, Tokyo, Japan), 寒天20 g (Kanto, Tokyo, Japan), 精製水1000 ml) に置床し, 20℃暗黒下で2週間培養した。出現した担子菌の菌叢を実体顕微鏡下で観察し, *Spiniger* 型の無性世代の形態 (Stalpers, 1974) を示すマツノネクチタケ属菌を識別して, 被害木1本につき1菌株が得られるよう再分離を行った。また, 調査地から30 km以上離れた場所から採集された日本産マツノネクチタケ3菌株を, 森林総合研究所 (FFPRI) および北海道立総合研究機構林業試験場 (HRO-FRI) の菌株保管庫から入手した。これら3菌株のうち2菌株は, トドマツ倒木上に発生していたマツノネクチタケ子実体から分離されたもので, 残り1菌株はオオシラビン腐朽材から分離されたものである。本研究で用いた菌株は, NIAS ジーンバンクもしくは森林総合研究所微生物生態研究室菌株庫, 北海道立総合研究機構林業試験場微生物実験室菌株保管庫に保管されている。

4-2-3 マツノネクチタケのゲノタイプ識別

(1) 体細胞不和合性試験

予備試験として, Stenlid (1985) に従った手法によりマツノネクチタケ数菌株をMEA培地上で対峙させた。しかし, この予備試験では, いずれの組み合わせにおいても明確な体細胞不和合性反応が確認されなかった。それゆえ, 体細胞不和合性試験によるマツノネクチタケ菌株のジェネット識別は, Hattori *et al.*, (1996) に従い, 鋸くず-米ぬか培地 (ブナ鋸くず: 米ぬか: 蒸留水) = 7 : 3 : 15, w : w : w) を径24 mmのガラス管に詰めたものを用いて行った。対峙させたい2菌株

をガラス管両端からそれぞれ同時に培地に接種し、25℃暗黒下で最大10週間培養して、定期的に体細胞不和合性反応の有無を確認した。このとき、2菌株が対峙するガラス管内の培地中央付近を観察し、明瞭な対峙線が形成されたものを体細胞不和合性、2菌株が完全に融合したものを体細胞和合性とみなした。この試験は調査プロットのトドマツ腐朽木から得られた33菌株すべてについて行い、各菌株について、その菌株が得られた周辺に位置していた他の被害木から得られた2～21菌株と対峙させた。また、被害木腐朽材由来の2菌株を、被害地の外から採集されたマツノネクチタケ子実体由来の2菌株それぞれと対峙させた。反復は各組み合わせにつき最低2回以上とし、不明瞭な結果もしくは中間の反応が得られた組み合わせについては再試験を行った。

(2) RAPD解析

RAPD解析は、被害木腐朽材から得られたすべてのマツノネクチタケ菌株33菌株および被害地の外から得られた子実体由来の3菌株について行った。DNA抽出は、液体MYG培地(2% (w/v) 麦芽抽出物, 0.2% (w/v) 酵母抽出物, 2% (w/v) グルコース)を用いて25℃暗黒下で1週間培養した菌糸から行った。DNAは、DNeasy plant minikit (Qiagen, Valencia, CA, USA)を用いて抽出した。PCR増幅は、鋳型DNAに2 merのプライマー (Bex, Tokyo, Common primers)を加えて行った。あらかじめ、マツノネクチタケ8菌株を使って多型バンドの出現程度およびバンドの明瞭さなどを基準にプライマーの選抜を行い、40プライマー (A00～A39)から選抜された8プライマーを本研究に用いた。PCR反応液(10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.25 μM 各プライマー, 2 mM dNTP, Takara taq もしくは Takara Extaq (0.5 U) (Takara, Tokyo, Japan))に抽出したDNA 10 ngを鋳型として添加し、総量 20 μLとした。Perkin-Elmer DNA thermal cycler (9800)またはBIO-RAD iCyclerを用いたPCR反応条件は、最初に94℃・5分間変性処理を行った後、94℃・1分間(変性)、50℃・1分間(アニーリング)、72℃・1分間(伸長)の3行程を35サイクル、最後に72℃・5分間(伸長)とした。泳動ゲルには1.5%アガロースゲル(Wako, Osaka, Japan)を用い、エチジウムブロマイドを加えた1×TAE緩衝液中で15～20分間電気泳動を行った後、紫外線を100Vで照射して発色させ、ポラロイド撮影した。得られたバンドデータは、個々のバンドについて、有を1、無を0とする2値データとし、データ行列を作成した。Nei and Li (1979)の式により、2菌株間で共通のRAPDバンドパターンからこれら2菌株の類似度係数(S)を計算した。類似度係数の計算は、供試したすべての菌株同士の組み合わせについて行った。PAUP* ver. 4.0b10 (Swofford, 2002)を用いて近隣結合法(NJ法)により、類似度に基づいた類似度関係図を作成した。

(3) マイクロサテライト解析

本研究では、4つのマイクロサテライト遺伝子領域:Ha-ms1, Ha-ms2, Ha-ms6, Ha-ms10 (Johannesson and Stenlid, 2004; Dart *et al.*, 2007)を遺伝子マーカーとして、マツノネクチタケ36菌株における対立遺伝子と遺伝子型の多様性を調べた。PCR反応液(10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 10 pM 各蛍光標識プライマー, 2.5 mM dNTP, Takara taq もしくは Takara rtaq (0.5 U) (Takara, Tokyo, Japan))に抽出したDNA 10 ngを鋳型として添加し、総量 20 μLとした。BIO-RAD iCyclerを用いたPCR反応条件は、最初に94℃・4分間変性処理を行った後、94℃・30秒間(変性)、56℃・30秒間(アニーリング)、72℃30秒間(伸長)の3行程を35サイクル、最後に72℃・7分間(伸長)とした。ABI PRISM 310 Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)でPCR産物を電気泳動し、遺伝子断片のサイズを決定した。このとき、PCR産物と0.5 μL GeneScan 400HD [ROX] Standard (Applied Biosystems)を12 μLホルマリンに加えて使用した。ソフトウェア310 GeneScan (Applied Biosystems)で各遺伝子座にある対立遺伝子を解析し、遺伝子型を決定した。3種類のゲノタイプ識別法:体細胞不和合性試験, RAPD解析, マイクロサテライト解析の結合データから識別された各ジェネットについて、ヘテロ接合度の観察値(H_o), 期待値(H_e)を計算し、Hardy-Weinberg平衡からの逸脱の有無をピアソンのカイ二乗検定で調べた。

4-3 結果

4-3-1 現地調査と分離

調査したプロット内には合計257本のトドマツ伐根があり、そのうち142本(55.3%)に発達した根株腐朽被害が確認された。これら被害木の伐根上面に確認できる腐朽部は十分に進行しており、伐倒される以前から被害木が根株腐朽菌に感染し、これら腐朽部が形成されていたことが示唆された。腐朽木142本のうち33本(23.2%)に、マツノネクチタケの典型的な病徴、すなわち、腐朽材はやや黄色味を帯びたオレンジ色で、繊維状、細長い小孔にセルロースと白色の菌糸が詰まった状態が観察された。マツノネクチタケ菌株は、伐根内部の中央付近に位置する腐朽材から分離した。マツノネクチタケ分離用試料を採取した伐根の内部には、複数の菌株が感染していたという兆候はみられなかった。よって、被害木33本それぞれから1菌株ずつ、合計33菌株を被害地のトドマツ腐朽材から分離した。伐根上で観察された年輪からは、伐採前のトドマツが高齢になっても健全木と同程度の肥大成長を続けていたことが示されていた。また、調査プロット周辺のトドマツにおいて、外見上認められるマツノネクチタケ感染の兆候はいっさい観察できなかった。調査期間中、プロット内の伐根上および調査地周辺の生立木上にマツノネクチタケの子実体発生は認められなかった。一方、この地域のトドマツ人

工林のあちこちで、マツノネクチタケの病徴を示すトドマツ被害木の伐根がしばしば観察された。

4-3-2 マツノネクチタケのゲノタイプの識別

(1) 体細胞不和合性試験

体細胞不和合性試験において、MEA平板培地上では不明瞭な反応が得られたが、ガラス管に詰めた鋸屑-米ぬか培地上では明瞭な反応結果を観察することができた。本研究では3タイプの反応：(i) 明らかな和合性の反応、(ii) 弱い和合性の反応、(iii) 不和合性の反応、が観察された。(i) の明らかな和合性の反応では、2菌株の菌糸が混ざり、対峙線をつくらずに成長して、形態的に均一な共通の菌糸体が対峙部分に形成された。この反応は、同一の菌株同士を対峙させた場合、およびプロット内の体細胞和合性の菌株同士を対峙させた場合に観察された(図-11)。(ii) の弱い和合性の反応では、2菌株の菌糸体が対峙部分で混ざらず、また、暗色の対峙線も形成されなかった。この反応は、プロット内から得られた弱い和合性の菌株同士を対峙させたときにしばしば観察された(図-11)。(iii) の不和合性の反応では、2菌株の対峙部分に暗色の対峙線が形成された(図-11)。この反応は、プロット内の菌株をプロット外の菌株と対峙させた場合に観察された。

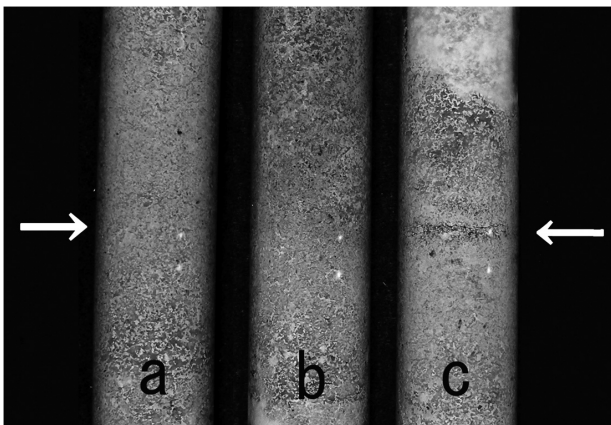


図-11. 鋸くず-米ぬか培地を用いたマツノネクチタケ菌株の対峙培養: a. 同一菌株間における明らかな和合性の反応, 菌株 HF578 × HF578; b. 対峙線が形成されない弱い和合性の反応, 菌株 HF578 × HF468; c. 対峙線が形成された不和合性の反応, 菌株 HF578 × HF583. 矢印は対峙させた2菌株の対峙部を示す。菌株とそれらのゲノタイプについては表-7を参照(Tokuda *et al.*, 2011)

Fig. 11. Pairings of *Heterobasidion parviporum* isolates in sawdust-rice-bran medium: a. A clearly compatible reaction of self pairing, isolates HF578 × HF578; b. A weakly compatible reaction without a zone line, isolates HF578 × HF468; c. An incompatible reaction with a clear black line, isolates HF578 × HF583. The arrows show the zones of confrontation between the paired isolates. Isolates and their detected genotypes are given in Table 7 (Tokuda *et al.*, 2011)

プロット内の菌株同士の組み合わせでは、ある特定の1菌株(HF-583)を他の菌株と対峙させた場合にのみ、この不和合性反応が観察された。

(2) RAPD解析

8プライマーを用いたRAPD解析によるマツノネクチタケ36菌株のゲノタイプ識別では、計46の遺伝子座を解析に用いることができた。RAPDによる増幅で得られたバンドの例を図-12に示す。1プライマーにつき3~10(平均5.8)遺伝子座が得られ、そのうち33遺伝子座(71.7%)が多型だった。Nei and Li (1979)に基づき計算された被害木由来の菌株間の遺伝的類似度は、0.75~0.98だった。RAPD解析からは、9つの明らかなRAPD multilocus genotypeが識別された。RAPD解析から得られた遺伝的類似度(Sxy)を用いてNJ解析を行った結果、被害木由来のマツノネクチタケ33菌株から識別された6つのRAPD multilocus genotypeは、被害地外のマツノネクチタケ3菌株のゲノタイプそれぞれとは明らかに異なっていた(図-13)。1つのゲノタイプが感染していたトドマツ被害木は1~15本だった。RAPD解析で識別されたゲノタイプの遺伝的類似度と被害地プロット内におけるゲノタイプ同士の距離は関連しており、マツノネクチタケのゲノタイプは、それらのプロット内における空間分布を反映したクラスターを類似度系統樹上でつくっていた(図-13, 14)。プロット内におけるゲノタイプの空間分布をみると、ゲノタイプRb(ジェネットB)とゲノタイプRc(ジェネットC, D, E)がひとつのグループをつくり、残りのゲノタイプRd(ジェネットF), Re(ジェネットG), Rf(ジェネットH)が別なグループをつくっていた。被害地から分離された菌株のなかでは、類似度の平均値がもっとも低く、プロットの縁近くの被害木1本からのみ分離されたゲノタイプRa(ジェネットA)が、類似度系統図において他の菌株ともっとも離れていた。

(3) マイクロサテライト解析

使用した4つのマイクロサテライトマーカーのうち2つのマーカー(Ha-ms1, Ha-ms2)で多型が検出されなかったため、Ha-ms6とHa-ms10のみをマイクロサテライト解析に用いた。Ha-ms1とHa-ms2のバンドサイズはそれぞれ170, 134だった。Ha-ms6からは5個、Ha-ms10からは3個の対立遺伝子が検出された。Ha-ms6とHa-ms10のバンドサイズはそれぞれ、260, 264, 266, 269, 271, および293, 298, 309だった。試料全体からは7種類のmultilocus genotypes (Ma-Mg)が識別され(表-7)、各遺伝子座における対立遺伝子サイズは、Ma (260, 266; 293, 293), Mb (266, 266; 298, 298), Mc (260, 266; 298, 298), Md (260, 266; 293, 298), Me (271, 271; 298, 298), Mf (260, 269; 298, 298), Mg (266, 264; 298, 298)だった。識別されたmultilocus genotypesの内訳は、プロット内被害木から分離した33菌株から4種類、プロット外3

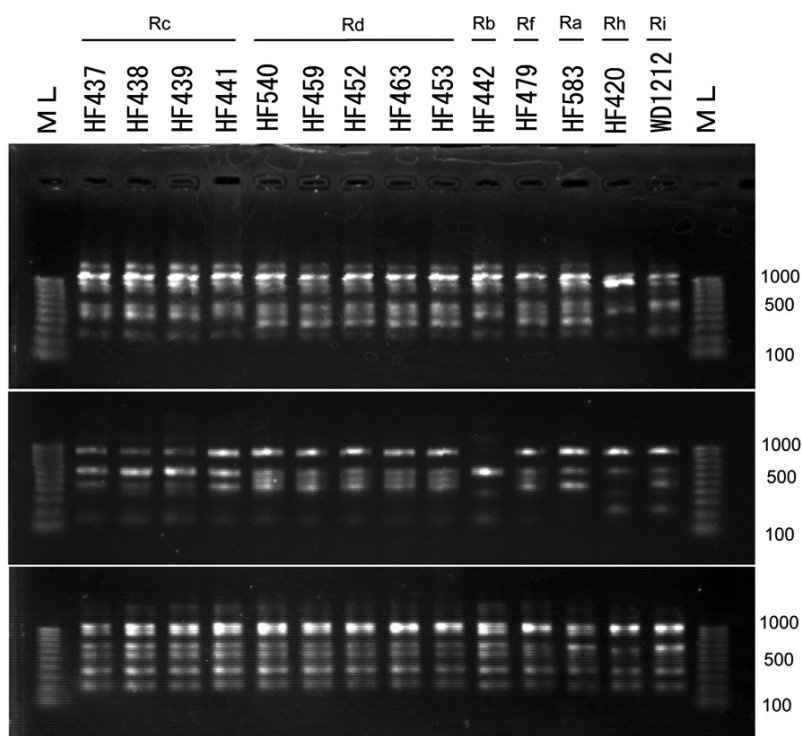


図-12. RAPD法によるマツノネクチタケ菌株DNAの電気泳動例. 使用したプライマーは上から順にA01; A10; A00. 菌株と識別されたゲノタイプはそれぞれ, HF437/Rc (レーン 2); HF438/Rc (レーン 3); HF439/Rc (レーン 4); HF441/Rc (レーン 5); HF540/Rd (レーン 6); HF459/Rd (レーン 7); HF452/ Rd (レーン 8); HF463/Rd (レーン 9); HF453/Rd (レーン 10); HF442/Rb (レーン 11); HF479/Rf (レーン 12); HF583/Ra (レーン 13); HF420/Rh (レーン 14); WD1212/Ri (レーン 15). レーンML は123 bp のサイズマーカー (Gibco BRL Inc.). 菌株とそれらのゲノタイプについては表-7を参照 (Tokuda *et al.*, 2011)

Fig. 12. Examples of random amplified polymorphic DNA amplification of DNA from *Heterobasidion parviporum* isolates using primers A01; A10; and A00, from the top to the bottom. Isolates and detected genotypes: HF437/Rc (lane 2); HF438/Rc (lane 3); HF439/Rc (lane 4); HF441/Rc (lane 5); HF540/Rd (lane 6); HF459/Rd (lane 7); HF452/ Rd (lane 8); HF463/Rd (lane 9); HF453/Rd (lane 10); HF442/Rb (lane 11); HF479/Rf (lane 12); HF583/Ra (lane 13); HF420/Rh (lane 14); WD1212/Ri (lane 15). Lane ML is the 123 bp ladder (Gibco BRL Inc.). Isolates and their detected genotypes are given in Table 7 (Tokuda *et al.*, 2011)

表-6. マイクロサテライト 2 遺伝子座におけるヘテロ接合度の観察値(Ho)と期待値(He) (Tokuda *et al.*, 2011)

Table 6. Observed (Ho) and expected (He) heterozygosities for the two microsatellite loci used in this study (Tokuda *et al.*, 2011)

Locus	Ha-ms 6	Ha-ms10
Genotype	260/266	293/298
Ho	0.75	0.5
He	0.47	0.47
X ²	2.880	0.0355

菌株からそれぞれ 1 種類ずつ計 3 種類となっていた(表-7)。プロット外から識別された 3 種類のゲノタイプは、いずれもプロット内から分離した菌株のゲノタイプとは異なっていた。ほとんどの菌株は 1 遺伝子座あたり 2 個の対立遺伝子をもっており、それらがヘテロカリオンであることが示唆された。

プロット内被害木から分離した33菌株においては、Ha-ms 6 とHa-ms10 に 2 個の対立遺伝子があった。ヘテロ接合度の観察値 (Ho) と期待値 (He) は、Ha-ms 6 ではそれぞれ0.75および0.47, Ha-ms10では0.50および0.47だった(表-6)。Hardy-Weinberg平衡からの逸脱の有無を調べるために行った

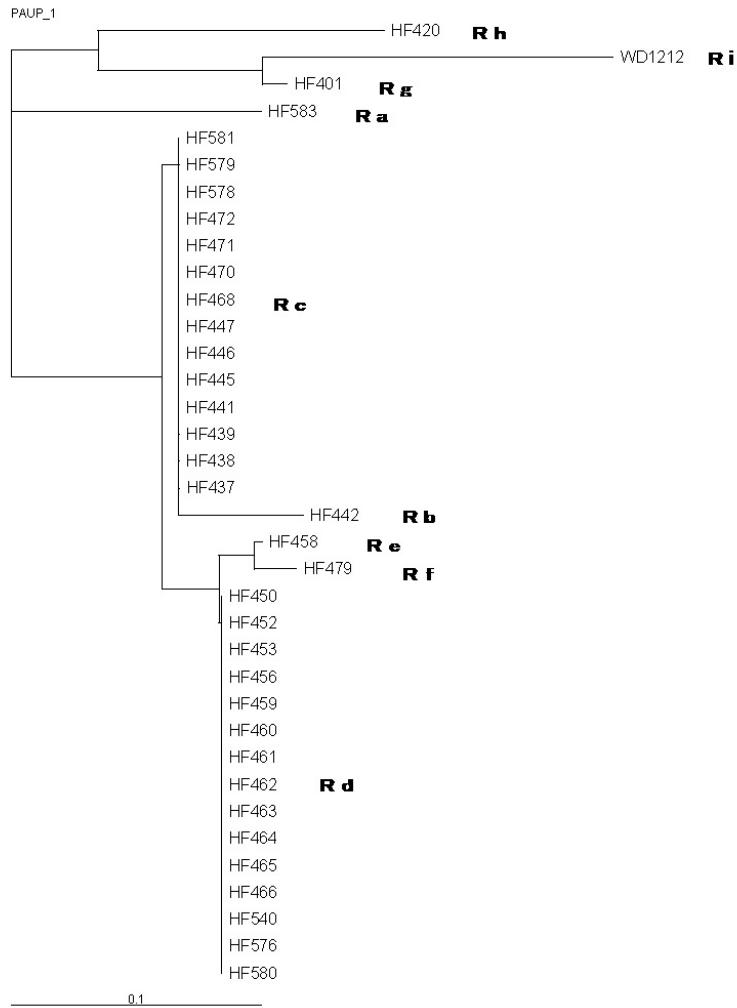


図-13. RAPD解析結果に基づき近隣結合法により作成したマツノネクチタケ菌株の類似度系統樹. 識別されたmultilocus genotype毎に記号を付与した (Ra-Ri). 菌株HF420, WD1212, およびHF401は調査プロット外から採集されたもので、それ以外の菌株は調査プロット内から採集されたものである. 菌株とそれらのゲノタイプについては表-7を参照 (Tokuda *et al.*, 2011)

Fig. 13. Phenogram of *Heterobasidion parviporum* isolates generated using the Neighbor-joining method based on random amplified polymorphic DNA polymorphisms. Same multilocus genotypes were scored by symbols (Ra-Ri). Isolate HF420, WD1212, and HF401 are collected from outside of the plot and remains are collected from the study plot. Isolates and their detected genets are given in Table 7 (Tokuda *et al.*, 2011)

ピアソンのカイ二乗検定の検定結果は、Ha-ms6で $\chi^2 = 2.880$ (df = 2, ns), Ha-ms10で $\chi^2 = 0.0355$ (df = 2, ns)だった。

(4) ジェネット識別

3手法：体細胞不和合性試験, RAPD解析, マイクロサテライト解析, によるマツノネクチタケのゲノタイプ識別の結果を表-7に示す。被害地プロットから分離された1菌株 (HF-583) と被害地外の3菌株 (HF-401, HF-420, WD-1212) のゲノタイプは、それぞれ明らかに別であり、また、残りの菌株とも異なっていた。HF-583のゲノタイプは3手法のすべてにおいて、プロット内から分離された他の菌株のゲノタイプと異なっていた。HF-583以外の被害木由来の菌株のい

くつかは手法によってゲノタイプ識別の結果が一致しない場合があり、3手法の結果を結合させる必要が生じた。HF-583以外の被害木由来の菌株は、体細胞不和合性試験では大きなひとつのゲノタイプとみなされたが、これらはRAPD解析では5グループ、マイクロサテライト解析では3グループに分けられた。体細胞不和合性試験, RAPD解析, マイクロサテライト解析から得られたデータを結合した結果、プロットから分離された33菌株は8つのジェネットに分類された (表-7)。

プロット内には、複数の被害木 (10~15本) から分離された大きなジェネット2個, 複数の被害木から分離された小さなジェネット2個, および1本の被害木からのみ分離された

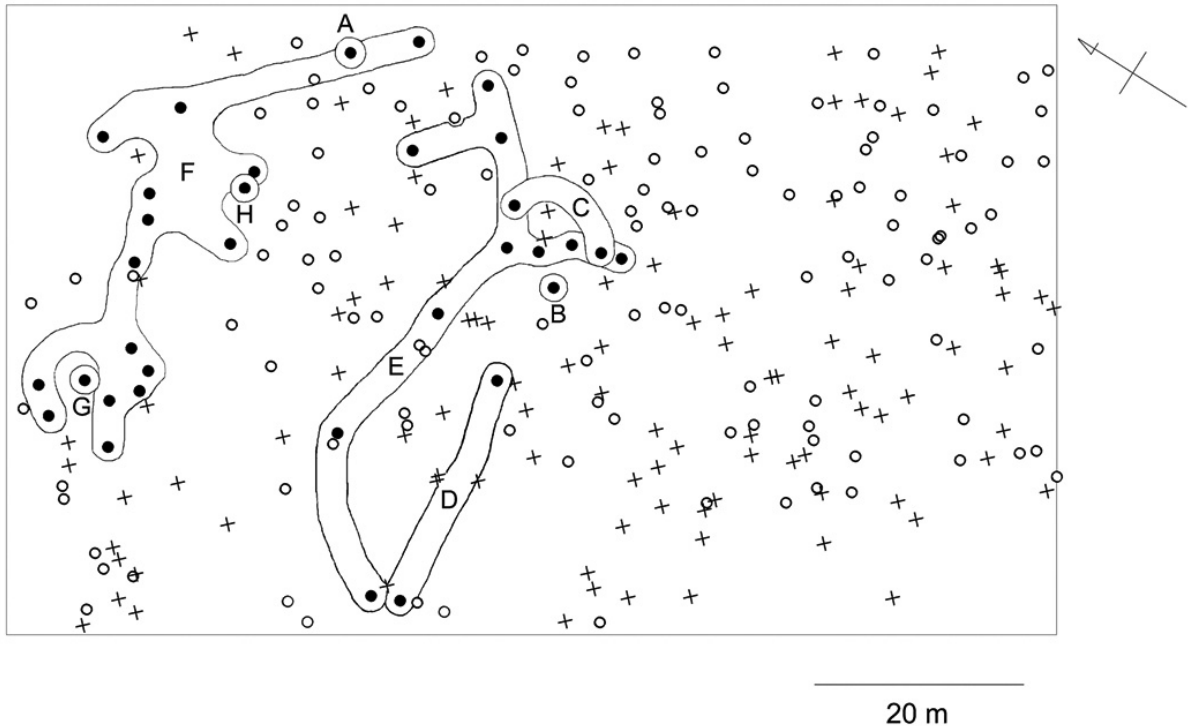


図-14. 68年生で伐採したトドマツ人工林伐根の空間分布。●, マツノネクチタケが分離された伐根; ○, 健全だった伐根; ×, マツノネクチタケが分離されなかった腐朽伐根. マツノネクチタケの各ジェネット (A~H) に感染していた伐根は、それぞれ線で囲って表示した (Tokuda et al., 2011)

Fig. 14. Spatial distribution of the 68-year-old Todo fir stumps from which *Heterobasidion parviporum* was isolated ●, healthy stumps ○, decayed stumps from which *H. parviporum* was not isolated ×. Trees encircled by a line were infected by the same *H. parviporum* genet (for genet names see Table 7) (Tokuda et al., 2011)

小さなジェネット4個が存在していたことが明らかとなった。

プロット内におけるマツノネクチタケのジェネット分布を図-14に示す。トドマツがマツノネクチタケに感染していた場所は、他の根株腐朽菌による根株腐朽被害が発生していた場所と重なっていなかった。2個の大きなジェネットEとFは、健全木およびマツノネクチタケ以外の根株腐朽菌により腐朽していた被害木によって隔てられていた。他の小さなジェネットは、これら大きなジェネットいずれかの周囲に配置されており、その結果、プロット内にはマツノネクチタケジェネットの大きな2つのグループが形成されていた。2本以上の被害木から分離されたジェネットにおいて、同一のジェネットに感染していた被害木のうちもっとも離れた場所にあったもの同士の距離、すなわちジェネットの長径は11~51 m (平均33.7 m)で、径50 m以上のジェネットは2個存在した。ジェネットあたりの被害木数は平均4.1本だった。最大のジェネットは15本のトドマツ被害木に感染しており、径51 mに達していた。

4-4 考察

体細胞不和合性システムは、同じ種に属する生物間の体細胞同士における核と細胞質の移動を妨げる多重遺伝子性の機

構であり、菌類の非自己認識を左右する (Johannesson and Stenlid, 2004)。これまでヨーロッパでは、被害地に広がるマツノネクチタケ (Eur-Sグループ (= *H. parviporum*)) のジェネットが、MEA平板培地を用いて行われる体細胞不和合性試験により明確に識別されてきた (Stenlid, 1985; Piri et al., 1990; Piri and Korhonen, 2007, 2008; Keča, 2008)。これらの事例では、体細胞不和合性試験において不明瞭な不和合性反応を示したのはわずか数菌株だけだった。しかし、これらの報告とは対照的に、本研究ではMEA平板培地を用いた体細胞不和合性試験ではマツノネクチタケのジェネットを識別することができなかった。

一方、数種の木材腐朽菌においては、体細胞不和合性試験を行う際、ガラス管に詰めた鋸くず-米ぬか培地が寒天平板培地よりも適当であることが知られている (久林・服部, 2002)。けれども今回の試験では、この鋸くず-米ぬか培地を用いた体細胞不和合性試験ですら決定的なジェネット識別を行うことができなかった。今回観察されたこうした不明瞭な反応の理由としては、調査した日本産マツノネクチタケのジェネット同士が遺伝的に非常に近縁であったことが考えられる。体細胞不和合性システムはいくつかの遺伝子座によって成り立っており、多くの担子菌においてヘテロカリオン菌株またはデ

表-7. 本研究で使用したマツノネクチタケ菌株の一覧: 菌株番号, 採集地, 分離源, 体細胞不和合性試験・RAPD解析・マイクロサテライト解析それぞれにより識別されたゲノタイプ, 3 手法の結果の統合により識別されたジェネット (Tokuda *et al.*, 2011)

Table 7. *Heterobasidium parviporum* isolates used in this study: Isolate numbers, location of collection, isolated material, detected genotypes based on somatic incompatibility tests, RAPD analyses, microsatellite analyses, and genets detected by combining the results of the three analytical techniques (Tokuda *et al.*, 2011)

Isolate ¹		NIAS genbank no.	Location	Host ²	Isolating source substrate	Detected genotypes ³			Detected genets by the combined data of three methods
HRO-FRI no.	FFPRI no.					Somatic incompatibility tests ⁴	RAPD analyses	Microsatellite analyses ⁵	
HF583	WD2476	-			Sa	Ra	Ma	A	
HF442	WD2446	MAFF420853			Sb	Rb	Mb	B	
HF438	WD2290	MAFF420770			Sb	Rc	Mb	C	
HF447	WD2453	MAFF420857			Sb	Rc	Mb	C	
HF468	WD2454	-			Sb	Rc	Mc	D	
HF472	WD2447	-			Sb	Rc	Mc	D	
HF437	WD2289	-			Sb	Rc	Mc	D	
HF439	WD2291	-			Sb	Rc	Md	E	
HF441	WD2452	MAFF420856			Sb	Rc	Md	E	
HF445	WD2451	MAFF420855			Sb	Rc	Md	E	
HF446	WD2450	MAFF420854			Sb	Rc	Md	E	
HF470	WD2449	-			Sb	Rc	Md	E	
HF471	WD2448	-			Sb	Rc	Md	E	
HF578	WD2472	-			Sb	Rc	Md	E	
HF579	WD2473	-			Sb	Rc	Md	E	
HF581	WD2475	-	Urahoro, Hokkaido, Japan	AS	Sb	Rc	Md	E	
HF450	WD2456	-			Sb	Rd	Md	F	
HF452	WD2466	-			Sb	Rd	Md	F	
HF453	WD2461	-			Sb	Rd	Md	F	
HF456	WD2467	-			Sb	Rd	Md	F	
HF459	WD2294	MAFF420774			Sb	Rd	Md	F	
HF460	WD2295	MAFF420775			Sb	Rd	Md	F	
HF461	WD2457	-			Sb	Rd	Md	F	
HF462	WD2465	-			Sb	Rd	Md	F	
HF463	WD2460	-			Sb	Rd	Md	F	
HF464	WD2464	-			Sb	Rd	Md	F	
HF465	WD2459	-			Sb	Rd	Md	F	
HF466	WD2458	-			Sb	Rd	Md	F	
HF540	WD2463	-			Sb	Rd	Md	F	
HF576	WD2471	-			Sb	Rd	Md	F	
HF580	WD2474	-			Sb	Rd	Md	F	
HF458	WD2462	-			Sb	Re	Md	G	
HF479	WD2455	-			Sb	Rf	Md	H	
HF401	WD2281	MAFF420761	Ashoro, Hokkaido, Japan	AS	Sc	Rg	Me	I	
HF420	WD2445	MAFF420852	Akan, Hokkaido, Japan	AS	Sd	Rh	Mf	J	
WD1212	WD1212	MAFF420756	Katashina, Gunma, Japan	AM	nt ⁶	Ri	Mg	K	

¹ 33 isolates collected from Urahoro were isolated from damaged Todo fir stumps in the study plot.

² AS, *Abies sachalinensis*; AM, *Abies mariesii*.

³ Same symbol means belonging to the same genotype detected by the each method.

⁴ Somatic incompatibility reaction was judged by the presence of the black zone line.

⁵ Each genotype was designated by following allele sizes of loci Ha-ms6 and Ha-ms10: Ma (260, 266; 293, 293), Mb (266, 266; 298, 298), Mc (260, 266; 298, 298), Md (260, 266; 293, 298), Me (271, 271; 298, 298), Mf (260, 269; 298, 298), and Mg (266, 264; 298, 298).

⁶ nt, not tested.

All isolates listed here are deposited in FFPRI. The isolates with MAFF number are deposited in NIAS GenBank.

イブroid菌株における“個体”を明確にしている (Rayner *et al.*, 1984)。しかし、このシステムは、必ずしもいつも、兄弟関係にあるヘテロカリオン菌株間のわずかな遺伝的差異を認識するわけではない (Hansen *et al.*, 1993a, 1993b; Ramsdale and Rayner, 1996)。Piri and Korhonen (2001) も、マツノネクチタケの小さなジェネットについて同様の結果を得ている。彼らの報告では、それらのジェネットは体細胞不和合性試験で不明瞭な反応を示し、このことから各ジェネットが遺伝的に近縁な関係にあること、および、おそらくそれらがいずれも元々1個のジェネット上に形成された子実体から飛散した担子胞子の感染に由来している可能性が示唆されている。

さらに、本研究では、2種類の分子系統学的手法からも、被害木から分離した菌株同士の高い遺伝的類似性が示されている。RAPD解析から得られた各菌株の類似度は高いものであり、また、調査プロット由来菌株のマイクロサテライト解析で多型が示されたのは2遺伝子座だけしかなく、しかもそれらからは各々2個の対立遺伝子しか検出されなかった。解析対象とした遺伝子座における対立遺伝子数が少なく、しかも多型がわずか2個しかなかったということは、調査地への感染源に関して2つの可能性を示唆している。すなわち、調査プロットにマツノネクチタケが定着した当時の感染源は1個の子実体であった、もしくは近縁な数個の子実体に由来していたものであったと推測される。被害地ジェネットの両遺伝子座についての解析ではHardy-Weinberg平衡からの逸脱が認められなかったため、ここで起こった有性生殖はおそらくランダム交配によるものであろう。しかし、複数の被害木に感染していたジェネットがいくつも存在していたことから、マツノネクチタケのクローナルな成長がもっとも主要な伝播経路であったと考えられる。

本研究で用いた3手法は、いずれも単独ではトドマツ人工林内に存在したマツノネクチタケの近縁なジェネットを完全に識別することができなかった。これほど近縁なマツノネクチタケ (広義) のジェネットが被害地に広がり、集団を形成して林分内で広い面積を占めていたという例は報告されていない。なお、弱い和合性の反応は分子系統解析2手法の結果が矛盾したとき、すなわち、異なるジェネットがRAPD解析でのみ識別された場合、もしくはマイクロサテライト解析でのみ識別された場合に観察された。このことは、RAPD解析とマイクロサテライト解析が相補的であることを示唆している。よって本研究では、トドマツ被害地に存在していたマツノネクチタケのジェネットを3手法の結果を結合させて識別するのが適当と考えられる。

本研究で識別されたマツノネクチタケのジェネットのうちもっとも大きく、径が51 mおよび50 mに達した2個のジェネットは、これまでに報告された *H. parviporum* のジェネットとしては最大のものである。また、他の近縁種を含めたマツノネクチタケ (広義) 全体のなかでも、過去に報告された同一

ジェネットに感染した2本の被害木間の距離の最大値とほぼ等しい値を示している。これまでに報告された最大の *H. parviporum* のジェネットは、フィンランド南部のヨーロッパトウヒ皆伐地で確認されたもので径が約35 mであった (Piri *et al.*, 1990)。また、マツノネクチタケ (広義) で最大のジェネットは、スペイン南部に位置する施業の行われていない国有林のスペインモミ (*Abies pinsapo* Boiss.) に感染していた *H. abietinum* のもので、径57 mであった (Sánchez *et al.*, 2007)。マツノネクチタケ類のジェネットのサイズを調査した14事例のほとんどでは、同菌類のジェネットサイズは径30 mに達しなかった (Queloz and Holdenrieder, 2005)。なお、マツノネクチタケ (広義) のジェネットサイズを同菌類のグループ間で比べると、各々の差は少ないとされている (Stenlid, 1987; Piri *et al.*, 1990; Queloz and Holdenrieder, 2005)。

一方、根株腐朽菌のジェネットのサイズを表す際には、被害木間の距離のほか同一ジェネットに感染した被害木の本数も指標とすることができる。本研究におけるマツノネクチタケの同一ジェネットに感染していた被害木数の最大値は、他の研究事例で報告された本数よりもかなり多いといえる。フィンランド南部ではマツノネクチタケのジェネットの平均サイズが比較的小さく (Piri *et al.*, 1990; Piri 1996)、ジェネットあたりの被害木数はもっとも多かったヨーロッパトウヒ林で平均2.5本、*Pinus contorta* 林で平均2.0本、シベリアカラマツ林とヨーロッパアカマツ林で平均1.2本、オウシュウシラカンバ林で平均1.0本だった (Piri, 1996)。スウェーデンのヨーロッパトウヒ林でもマツノネクチタケのジェネットが比較的小さいことが Stenlid (1987) により報告されており、3林分で調査された1ジェネットあたりの被害木数はそれぞれ1.5、2.3、2.5本だった。Piri and Korhonen (2007) が被害木10本以上に感染していた大きなジェネットを報告しているが、この例はまれである。通常、マツノネクチタケ (広義) のジェネットはヨーロッパトウヒ人工林の収穫期であってもジェネット1個あたり1~3本の被害木にしか広がらない (Stenlid, 1985; Piri *et al.*, 1990; Piri and Korhonen, 2001, 2007)。

一方、海外の事例とは対照的に、本研究ではジェネットあたり平均4.1本の被害木が感染しており、また、それぞれ10本および15本のトドマツに広がっていた2個の巨大なジェネットが確認された。おそらくこの地域では、高齢化した人工林におけるマツノネクチタケの大きなジェネットは稀ではないと推測される。しかし、本研究で識別されたジェネットの半分は1本のトドマツにしか感染していなかった。ヨーロッパトウヒ林の主伐時における調査では、被害木1本にしか感染していないジェネットの割合は50~60%であり (Stenlid, 1985; Piri *et al.*, 1990; Piri and Korhonen, 2001)、本研究の結果と一致する。

日本ではマツノネクチタケの深刻な被害が発生している地域であっても同菌の子実体が発生することはまれとされてい

る（亀井・星, 1948；青島, 1952；Tokuda *et al.*, 2007）。1個の子実体がつくった兄弟関係にある担子胞子が同時に感染することを可能にする胞子分散の機会がほとんど起こらず、本菌が宿主根系の接触を通じた栄養成長に依存している場合、複数の被害木に感染した比較的大きなジェネットは根系の接触部を通じた菌糸の栄養成長によって拡大したものとみなすことができる。Stenlid and Redfern (1998) は、ジェネットのサイズと平均成長速度からマツノネクチタケ（広義）のジェネットの齢を計算し、北欧でみつかった最大のジェネット（直径約50 m）の齢がほぼ100年で、また、マツノネクチタケ（広義）のジェネットは最高200年くらいの齢になりうることを推測した。この成長率を当てはめると、本研究の調査地で最大だったジェネットの齢は100年以上にもなりうることを推測される。このことから、プロット内から識別されたうちもっとも大きかった2個のジェネットは68年生のトドマツ人工林よりも古いもので、人工林造成時に林内に残された天然林被害木の伐根から栄養成長によって植栽木に拡大したものと考えられる。

一方、被害地で識別されたマツノネクチタケのジェネットのうち小さなものは最近起こった胞子感染に由来する若いジェネットかもしれないが、そうではなく、距離が離れた別のトドマツに広がらなかった古いジェネットである可能性もある（Piri and Korhonen, 2007）。そのため、比較的高い頻度でプロット内に存在した小さなジェネットは必ずしも胞子感染の相対的な重要性を保証しているわけではない。さらに、ヨーロッパのトウヒ林ではマツノネクチタケの子実体が頻繁に発生し、担子胞子の分散により新たな宿主を感染させていくが、今回の調査では調査地付近でマツノネクチタケの子実体発生を確認することができなかった。

日本のマツノネクチタケでは、これまでに得られた標本のほぼすべてが原生的な森林内にある倒木上に発生していたものであり（Tokuda *et al.*, 2009）、また、通常、子実体を見つけることは困難である（亀井・星, 1948；青島, 1952）。調査プロットでは過去に数回の間伐が行われており、それぞれの間伐時には胞子感染に最適な新しい伐根面が発生した。けれども、そのときマツノネクチタケの子実体が形成されなかったために、同菌は担子胞子によって新鮮な伐根や生立木の損傷に感染することができなかったのであろう。そのため、この場所では担子胞子による新たな感染の頻度は低かったと考えられる。一方、トドマツ造林木同士の比較的小さい距離は、人工林がつくられてから数十年間、根系の接触を通じたマツノネクチタケの栄養成長によるジェネット拡大を可能にしたと考えられる。栄養成長はこの調査地のように子実体形成に不適な環境下にある菌類にとって、もっとも確実な伝播法であったであろう。さらに、隣接木間の距離が短かったことにより、感染木同士の根系の接触が起こり、実験室内もしくは野外個体群で確認されたような菌糸間の核の移動と置き換えも

促進されたと推測される（Johannesson and Stenlid, 2004）。一方、空間分布との関係が認められたプロット内ジェネット群の遺伝的類似度からも、病原菌の伝播における菌糸成長の重要性が示されている。けれども、Harrington *et al.* (1998a) と Garbelotto *et al.* (1999) が指摘しているように、プロット内で観察された隣り合ったジェネット同士の類縁関係は、接触したヘテロカリオン菌株同士の相互作用のほか、ヘテロカリオン菌株とホモカリオン菌株の相互作用、もしくは両ジェネットの感染源となった担子胞子が1個の子実体に由来していた、ということでも説明が可能である。本研究は、トドマツ人工林でマツノネクチタケがとった伝播法それぞれの相対的な重要性を直接調査するものではなく、日本産マツノネクチタケの感染拡大機構を解明するためにはより詳細な研究が必要であるが、ここではマツノネクチタケが主に人工林造成前の森林が残した古い伐根もしくは切り残した残存木から植栽木へ感染し、隣接木へと広がっていったものと結論づける。それゆえに、調査したトドマツ人工林では根系の接触部を通じた栄養成長が胞子感染よりも重要であったと考えられる。

マツノネクチタケのヨーロッパ産系統はトウヒ属樹木に強い宿主選択性を示し、主な宿主に対して強い病原性をもつ（Korhonen, 1978）。このヨーロッパ産系統に比べるとアジア産系統は宿主樹種の幅が比較的に広く、本来の宿主に対しては低い病原性を示すようである（Dai *et al.*, 2003, 2006；Tokuda *et al.*, 2007）。国内では、マツノネクチタケが直接原因となった宿主の枯死や外見上明らかな本菌の病徴、林木の衰退の報告はない（青島ほか, 1977；Tokuda *et al.*, 2007）。マツノネクチタケ（広義）のなかでヨーロッパに産する3種は北米産の2種（*H. occidentale*, *H. irregulare*）に比べて遺伝的な多様性が高く、このことからマツノネクチタケはヨーロッパ大陸に移入した後、おそらく最終氷期が終わってから北米大陸に移入したと考えられている（Otrosina *et al.*, 1993）。一方、日本産マツノネクチタケはヨーロッパ産系統より塩基配列の多様性が高く、より古い存在であると考えられる（Ota *et al.*, 2006）。けれども、本研究の調査プロットから識別されたジェネット群は遺伝的に非常に近縁であり、同程度のスケールで比較した場合、おそらく、ヨーロッパの各被害地から報告されたとのマツノネクチタケジェネット群よりも低い遺伝的多様性をもつ。マツノネクチタケによる腐朽被害を理解しコントロールするためには、今後、日本産マツノネクチタケのジェネットの構造および多様性をさらに調査する必要がある。また、マツノネクチタケが示す病原性の進化的背景を明らかにするためには、これらの研究に加えて、ヨーロッパ産系統とアジア産系統について各々の本来の宿主への相互接種を含めた病理面に関する研究が必要であろう。

第5章 結論 —総合考察と推奨される防除法—

マツノネクチタケ（広義）：*Heterobasidion annosum* s.l. は、北半球広域の人工林および天然林で針葉樹を中心とした林木に著しい根株腐朽被害および枯死被害をもたらすもっとも重要な樹木病原菌である。本研究では、これまで情報が不足していた日本産マツノネクチタケの特徴を包括的に把握することを目的とし、標本収集と観察、野外調査、屋内実験により、本菌および国内産同属菌3種の分類学的位置づけ、トドマツ人工林におけるマツノネクチタケ被害の特徴、被害地における同菌の伝播法および北海道で推奨される被害軽減法を明らかにした。

5-1 日本産マツノネクチタケ属菌3種の分類学的位置づけと新種の記載

日本および東アジアに産するマツノネクチタケ属菌3種（マツノネクチタケ（*Heterobasidion annosum* s.l.）、レンガタケ（*H. insurale*）、南方系未同定種（*Heterobasidion* sp.））について3遺伝子領域（gpd, hsp, ef）を用いた分子系統学的解析と形態比較により分類学的位置づけを検討した結果、これらは、既知の1種：マツノネクチタケ（*Heterobasidion parviporum*）と2種の新種：レンガタケ（*Heterobasidion orientale*）およびカラナシレンガタケ（*Heterobasidion ecrustosum*）に分類された（第2章）。

日本では中部以北の亜高山帯に分布し、多年生で明らかな殻皮と小型で円形の孔をそなえるマツノネクチタケは、マツノネクチタケ（広義）のうち比較的病原性が弱くヨーロッパトウヒの病原菌として知られる*H. parviporum*であることが明らかとなった。しかし、ヨーロッパのものは傘表面の密綿毛がより長く孔口がやや大きい点で、日本産のものとは形態的に幾分異なっていた。また、両者は系統樹上、非常に近縁なことが示されながらも異なるサブクレードに属していた。広域に分布し、マツノネクチタケよりも宿主樹種が多いレンガタケは1年生で、上面が赤褐色で縁が白色の傘、薄い殻皮、しばしば迷路状となる孔をそなえる。本菌はこれまで*H. insurale*とみなされてきたが、日本産および中国産標本の形態的特徴はフィリピンから得られた*H. insurale*タイプ標本が示すものと異なっていた。また、観察された形態的特徴が既知の種のいずれとも一致しなかったことから、本菌をマツノネクチタケ属の新種として記載した。なお、分子系統解析からは、レンガタケが*H. araucariae*および*H. ecrustosum*に近縁であることが明らかとなった。カラナシレンガタケは1年生で、殻皮を欠くかもしくは基部にのみにそなえ、円形で大型の孔をもつ。本菌は日本の南部と中国に分布し、マツ類枯死木上に発生する。分子系統解析の結果からは、カラナシレンガ

ケが国内産の他の2種よりもオーストラリア周辺に分布する*H. araucariae*と近縁であることが明らかとなった。

5-2 トドマツ人工林で確認されたマツノネクチタケによる根株腐朽被害の特徴と病原菌の生態、主要な伝播法

北海道東部にある68年生トドマツ人工林で激しい根株腐朽被害がみつかったので、病原菌の分離菌株のDNA解析と菌叢の形態観察を行ったところ、マツノネクチタケ（*H. parviporum*）による腐朽被害であることが明らかとなった（第3章）。国内で発生した同菌の被害をDNA解析により確認したのは本研究が初めてである。調査プロット内のトドマツ57本のうち27本（47%）に根株腐朽被害が確認され、マツノネクチタケによる被害はこれら27本のうち14本（52%）に発生していた。本菌によるトドマツの根株腐朽は、心材が黄色味を帯びたオレンジ色～淡褐色に腐朽し、材に細長い空隙が発達して繊維状を呈するもので、腐朽部は根株だけにとどまらず樹幹上方へむかって拡大していた。被害が著しいトドマツでは樹幹内部が空洞となり、また、心材部に加えて辺材部にも腐朽が及んでいたが、被害木の年輪からは罹病したトドマツが衰退せずに健全木と同程度の肥大成長を続けていたことが明らかとなった。また、調査地内やその周辺で樹木衰退の徴候はみられなかった。

本研究では3種類の手法（体細胞不和合性試験、RAPD解析、マイクロサテライト解析）を併用して、被害地におけるマツノネクチタケのジェネット分布とその遺伝的多様性を調査した。国内における同菌のジェネット分布調査は本研究が初めてである。収穫・伐採の行われた68年生トドマツ人工林被害地に設定した60×100mのプロット内にあった被害木33本それぞれから分離されたマツノネクチタケ33菌株は、それぞれ1～15本のトドマツに感染した8個のジェネットに識別された（第4章）。特定の1菌株からなる1ジェネットだけは遺伝的に他のものと異なっており、3手法の結果が一致して識別された。しかし、非常に近縁だった残り32菌株については、各手法によりわずかず異なる結果が得られた。単一の伐根上などで識別された小型のジェネット群を除くと、マツノネクチタケ（広義）でこれほど近縁なジェネットが被害木から多数識別された事例はこれまで報告されていない。また、径が51mおよび50mに達した2個のジェネットは*H. parviporum*のジェネットとしては世界最大のものであり、Stenlid and Redfern (1998) が用いたマツノネクチタケジェネットの成長率から計算したこれら2ジェネットの齢は100年以上とみなされた。ジェネットの特徴と観察された同菌の生態から、担子胞子分散が頻繁な海外の個体群とは異なり、被害地のマツノネクチタケは主に根系の接触部を通じて栄養繁殖（菌糸成長）による感染拡大を行っていることが示唆された。被害地から識別されたマツノネクチタケは、もともと1個もしくは

数個の子実体でつくられた担子胞子に由来しており、人工林が造成される以前の天然林だった頃にこの場所に定着した後、残された被害木伐根もしくは感染した生残木から人工林に引き継がれ、また、主に菌糸成長によって隣接木間を広がったものと考えられた。

5-3 日本産マツノネクチタケの被害防除への提言

北海道内の天然林では、マツノネクチタケや他の根株腐朽病原菌が天然更新した若木に引き継がれ(青島ほか, 1977), 今関・青島(1955b)は北海道の原生的な天然林ではトドマツの50%以上が根株腐朽病に罹病していることを報告している。国内では、マツノネクチタケは比較的稀な種であり、北海道においてもマツノネクチタケの分布は亜高山帯に限られているが、亜高山帯に造成されたトドマツ人工林における本菌の根株腐朽被害は林齢が上がるにつれ天然林同様、今後増加していくものと推測される。被害が顕在化しやすいヨーロッパの状況とは異なり、宿主の衰退や枯死が起らない日本ではマツノネクチタケの被害を初期の段階で見つけることは難しい。けれども、マツノネクチタケ被害を受けたトドマツ腐朽材は心材部に淡オレンジ色～淡褐色かつ繊維状の特徴的な腐朽型を呈するので、各地のトドマツ人工林が高齢級化し収穫が行われつつある今現在がマツノネクチタケの被害地およびその被害状況を把握するよい機会であると考えられる。

本研究から、日本産マツノネクチタケのトドマツ被害地における主要な伝播機構が海外のマツノネクチタケが示すものとはかなり異なっていることが明らかとなった。そのため、北海道内でマツノネクチタケ被害を防除する際には、海外で実行されている担子胞子分散を妨げるための伐根処理(薬剤や拮抗生物の散布)による防除は基本的に不必要であると考えられる。そのかわり、道内の針葉樹林では栄養繁殖による伝播を断つことを目的とした施策が推奨される。例えば、たとえ小径木であっても残存木を残さない徹底した皆伐、林地からの被害木伐根の除去もしくはマツノネクチタケが死滅するよう伐根を抜き上げて地表で自然乾燥させる処理、抵抗性樹種への樹種転換、トドマツ同士の根の接触を防ぐ広葉樹を交えた混交林化、低密度植栽などが適当であろう。日本のマツノネクチタケは子実体形成を行うことが稀で、栄養繁殖に強く依存しているので、いったん林地から感染源をなくし、隣接したトドマツ同士の接触機会を減らせば、その林分におけるマツノネクチタケ被害は相当軽減されるものと考えられる。

一方、これまで北海道では根株腐朽被害の軽減を視野に入れた森林施策が行われたことはなく、現在の北海道では森林資源の平準化や森林の持つ多面的な機能の発揮を目的として、人工林の長伐期化、択伐や小面積の孔状皆伐、複層林化などが広く推奨されている(北海道水産林務部総務課, 2010)。しかし、これらの施策をマツノネクチタケ被害地で行うと、マツノネクチタケに感染した生立木を林内に長く残す、または、

伐根を含めた被害木のそばに更新木が位置することとなり、罹病木と健全木の接触機会が増加して次世代林への被害の引継ぎや林分内での感染拡大を助長する可能性がある。用材生産を目的とする場合、マツノネクチタケによる根株腐朽被害が著しい林分ではこれらの施業法を避け、マツノネクチタケの伝播を妨げるよりふさわしい施業を行うことが望まれる。

本研究により、日本産マツノネクチタケの特徴が明らかとなり、北海道の森林管理に資する情報提供と施業への提言が可能となった。さらに、現在、国外では地域や国を超えてマツノネクチタケ属の進化、ゲノム解析、病原性、宿主との相互関係、寄生するマイコウィルスなどを対象としたマツノネクチタケ(広義)に関する横断的な研究が進められている。同属3種が分布する日本は学術上貴重な場所であり、日本産マツノネクチタケについて調査した本研究は世界的な菌類研究の発展へも大きく貢献するものといえよう。

謝 辞

本論文は、5論文(Ota *et al.*, 2006; Tokuda *et al.*, 2007, 2009, 2011; 徳田, 2010)に基づいて作成された北海道大学審査学位論文(2011年12月)を改変したものである。研究を行う過程では、本当に多くの方々にお世話になった。北海道大学大学院農学研究院森林資源生物学研究室: 矢島 崇教授, 玉井 裕准教授, 宮本敏澄助教, 造林学研究室: 小池孝良教授には原稿の校閲をして頂き、御批判を頂いた。特に、玉井 裕准教授からは具体的なお指導を何度も頂いたことに深く感謝する。マツノネクチタケ子実体の発生地へ案内していただき、見つけ方を教えてくださった五十嵐恒夫名誉教授、必須のマツノネクチタケ文献を教えてくださいました北方生物圏フィールド科学センター: 車 柱榮准教授には本研究に着手するきっかけをつくって頂いた。

標本採集にあたっては、北海道森林管理局: 十勝東部森林管理署, 十勝西部森林管理署東大雪支署, オホーツク総合振興局東部森林室から調査の許可を頂くとともに便宜を図って頂いた。New York Botanical Gardenからは *H. insulare* のタイプ標本, Landcare Research・Buchanan 博士からは *H. araucariae* のタイプ標本を貸与して頂いた。Museum Vysociny v Jihlave・Vampola 博士, Agricultural Institute San Michele all' Adige・La Porta 博士, August Cieszkowski Agricultural University・Łakomy 博士からは寛大にもマツノネクチタケ(広義)標本の提供を受けた。

十勝地方での野外調査にあたっては、新田紀敏氏(現北海道立総合研究機構林産試験場)をはじめ十勝総合振興局森林室職員の方々から多大な御協力を頂き、調査林分の収穫をされていた二瓶林業の皆様には、造材現場における被害木観察の便宜を図って頂いた。九州大学(現信州大学)小林 元氏からはジェネット調査のためのGPS機器を貸与して頂いた。

また、被害地での現地調査に際しては、北海道立総合研究機構林業試験場道東支場の大島紹郎前支場長、中田圭亮支場長、鳥田宏行氏、山本健治氏、眞田智子氏、臨時職員の方々に御協力頂いたほか、寺澤和彦氏から土壌調査法のご指導を頂いた。林業試験場の小野寺賢介氏からは野外調査の御協力と御助言、原 秀穂氏、明石信廣氏、雲野 明氏、対馬俊之氏からは森林保護に関する御助言を日頃から頂いた。林業試験場・八坂通泰氏、滝谷美香氏、大野泰之氏からは森林施業との関わりに関する御助言を頂き、秋本正信氏、塚田晴朗氏からは野外調査へのご協力、臨時職員の方々には実験補助のご協力を頂いた。筑波大学（現鳥取大学）早乙女 梢氏、森林総合研究所・加賀谷悦子氏からはDNA解析の御協力と論文作成における御助言を頂いた。また、森林総合研究所・臨時職員の皆様にはDNA解析に係る諸実験の補佐をして頂いた。小林享夫氏、森林総合研究所（現日本大学）・阿部恭久氏、森林総合研究所・金子 繁氏、楠木 学氏、河辺祐嗣氏、佐橋憲生氏、根田 仁氏、田端雅進氏、濱口京子氏、森林総合研究所（現東京大学）・山田利博氏、東京薬科大学・東浦康友氏、山梨県森林総合研究所・大澤正嗣氏、長野県林業総合センター・岡田充弘氏、長崎県総合農林試験場・久林高市氏、群馬県林業試験場（現群馬県庁）・小野里 光氏、Canadian Forest Service・平塚保之先生からは有益なご助言と度重なる叱咤激励をいただいた。

私が針葉樹の根株心腐病菌マツノネククチタケの研究を始めた当初から本研究に関わってくださり、菌類研究の初歩から辛抱強く、絶え間ないご指導とご協力を惜しみなく降りそそいでくださった森林総合研究所・服部 力氏と太田裕子氏の存在がなければ、本研究は成しえなかった。

以上の方々に心からの御礼を申し上げる。

付 表

本文中では、国内に自生する樹木および和名が通用している外国産樹木については樹種名を和名で記した。以下に学名を記しておく。和名および学名は、米倉浩司・梶田忠（2003-）「BG Plants 和名-学名インデックス」(YList), http://bean.bio.chiba-u.jp/bgplants/ylist_main.html (2011年10月1日)にしたがった。

マツ科 (Pinaceae)

- ヨーロッパモミ (*Abies alba* Mill.)
- モミ (*Abies firma* Siebold et Zucc.)
- オオシラビソ (*Abies mariesii* Mast.)
- トウシラベ (*Abies nephrolepis* (Trautv.) Maxim.)
- スペインモミ (*Abies pinsapo* Boiss.)
- トドマツ (*Abies sachalinensis* (F. Schmidt) Mast.)

* 本論文では、供試した標本のラベルおよび菌株の分離源に記載されていた *Abies sachalinensis* var. *mayriana* をトドマツに含めた。

- シベリアモミ (*Abies sibirica* Ledeb.)
- シラビソ (*Abies veitchii* Lindl.)
- カラマツ (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carrière)
- シベリアカラマツ (*Larix sibirica* (Münchh.) Ledeb.)
- ヨーロッパトウヒ (*Picea abies* (L.) Karst.)
- アカエゾマツ (*Picea glehnii* (F. Schmidt) Mast.)
- エゾマツ (*Picea jezoensis* (Siebold et Zucc.) Carrière)
- ヒメバラモミ (*Picea maximowiczii* Regel ex Carrière)
- アカマツ (*Pinus densiflora* Siebold et Zucc.)
- チョウセンゴヨウ (*Pinus koraiensis* Siebold et Zucc.)
- リュウキュウマツ (*Pinus luchuensis* Mayr)
- 台湾アカマツ (*Pinus massoniana* Lamb.)
- ヨーロッパアカマツ (*Pinus sylvestris* L.)
- テーシャン (*Tsuga chinensis* (Franch.) E. Pritz.)
- コメツガ (*Tsuga diversifolia* (Maxim.) Mast.)
- ツガ (*Tsuga sieboldii* Carrière)

ナンヨウスギ科 (Araucariaceae)

- カウリマツ (*Agathis australis* Salisb.)

ヒノキ科 (Cupressaceae)

- スギ (*Cryptomeria japonica* (L. f.) D. Don)

ブナ科 (Fagaceae)

- ミズナラ (*Quercus crispula* Blume)

カバノキ科 (Betulaceae)

- オウシュウシラカンバ (*Betula pendula* Roth)
- シラカンバ (*Betula platyphylla* Sukaczew var. *japonica* (Miq.) H. Hara)

カエデ科 (Aceraceae)

- エゾイタヤ (*Acer pictum* Thunb. subsp. *mono* (Maxim.) H. Ohashi)

モクセイ科 (Oleaceae)

- ヤチダモ (*Fraxinus mandshurica* Rupr. var. *japonica* Maxim)

略号一覧

CI	consistency index
DNA	deoxyribonucleic acid
ef	elongation factor 1- α
gpd	glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
GTR + G	general time-reversible plus gamma
HKY 85	Hasegawa-Kishino-Yano 85
hsp	heat shock protein

IKI-	non-dextrinoid
ITS領域	internal transcribed spacer region
IGS領域	intergenic spacer region
K80(K 2 P)+ G	K80(Kimura 2-parameter) plus gamma
MEA	malt extract agar
ML	maximum likelihood
MP	maximum parsimony
MYG	malt extract-yeast extract-glucose
NJ	neighbour-joining
RAPD	random amplified polymorphic DNA
rDNA	ribosomal DNA
RNA	ribonucleic acid
s.l.	<i>sensu lato</i>
sp.	species
sp. nov.	<i>species nova</i>
s.s.	<i>sensu stricto</i>

引用文献

- 青島清雄 1952 マツノネクチタケ及びトドマツオオウズラタケによるアオモリトドマツ及びシラベの心材腐朽. 日林誌 34: 305-307.
- 青島清雄・林 康夫・魚住 正 1977 菌害. 日本林業技術協会(編) 石狩川源流森林総合調査報告 第2次 -昭和48~50年度-. pp. 141-147. 旭川営林局, 旭川
- Asiegbu FO, Abu, S., Stenlid, J. and Johansson, M. 2004 Sequence polymorphism and molecular characterization of laccase genes of the conifer pathogen *Heterobasidion annosum*. Mycol. Res. 108: 136-148.
- Asiegbu, F. O., Adomas, A. and Stenlid, J. 2005 Conifer root and butt rot caused by *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. *s.l.* Molecular Plant Path. 6: 395-409.
- Bendz-Hellgren, M., Lipponen, K., Solheim, H. and Thomsen, I. M. 1998 The Nordic countries. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. pp. 333-345. CAB International, Wallingford, UK.
- Binder, M. and Hibbett, D. S. 2002 Higher-level phylogenetic relationships of homobasidiomycetes (mushroom-forming fungi) inferred from four rDNA regions. Mol. Phyl. Evol. 22: 76-90.
- Bodles, W. J. A., Beckett, E. and Woodward, S. 2007 Responses of Sitka spruce of different genetic origins to inoculation with *Heterobasidion annosum*: lesion lengths, fungal growth and development of the lignosubericized boundary zone. For. Path. 37: 174-186.
- Buchanan, P. K. 1988 A new species of *Heterobasidion* (Polyporaceae) from Australasia. Mycotaxon 32: 325-337.
- Burdekin, D. A. 1972 A study of losses in Scots pine caused by *Fomes annosus*. Forestry 45: 189-196.
- Capretti, P., Korhonen, K., Mugnai, L. and Romagnoli, C. 1990 An intersterility group of *Heterobasidion annosum* specialized to *Abies alba*. Eur. J. For. Path. 20: 231-240.
- Chase, T. E. and Ullrich, R. C. 1990 Genetic basis of biological species in *Heterobasidion annosum*: Mendelian determinants. Mycologia 82: 67-72.
- Cheng, D. and Igarashi, T. 1988 Histopathology of Yezo spruce and Glehn's spruce seeds infected by the dark snow-blight causal fungus *Racodium therryanum*. J. Jpn. For. Soc. 70: 344-351.
- 程 東昇・五十嵐恒夫 1990 エゾマツ, アカエゾマツ, ドマツ及びカラマツ種子・稚苗の暗色雪腐病菌に対する感受性. 北大農演報 47: 125-136.
- カラーアトラス 1998 「HV/C基準色票」20色相簡略版, 南海, 大阪
- Corner, E. J. H. 1989 Ad Polyporaceae V. The genera *Albatrellus*, *Boletopsis*, *Coriolopsis* (dimitic), *Cristelloporia*, *Diacanthodes*, *Elmerina*, *Fomitopsis* (dimitic), *Gloeoporus*, *Grifola*, *Hapalopilus*, *Heterobasidion*, *Hydnopolyporus*, *Ischnoderma*, *Loweporus*, *Parmastomyces*, *Prenniporia*, *Pyrofomes*, *Stecchericum*, *Trechispora*, *Truncospora* and *Tyromyces*. Beih Nova Hedwigia 96: 1-218.
- Dai, Y. -C. and Korhonen, K. 1999 *Heterobasidion annosum* group S identified in north-eastern China. Eur. J. For. Path. 29: 273-279.
- Dai, Y. -C. and Korhonen, K. 2009 *Heterobasidion australe*, a new polypore derived from the *Heterobasidion insulare* complex. Mycoscience 50: 353-356.
- Dai, Y. -C., Vainio, E. J., Hantula, J., Niemelä, T. and Korhonen, K. 2002 Sexuality and intersterility within the *Heterobasidion insulare* complex. Mycol. Res. 106: 1435-1448.
- Dai, Y. -C., Vainio, E. J., Hantula, J., Niemelä, T. and Korhonen, K. 2003 Investigations on *Heterobasidion annosum s.lat.* in central and eastern Asia with the aid of mating tests and DNA fingerprinting. For. Path. 33: 269-286.
- Dai, Y. -C., Yuan, H. S., Wei, Y. L. and Korhonen, K. 2006 New records of *Heterobasidion parviporum* in China. For. Path. 36: 287-293.
- Dai, Y. -C., Cui, B. K., Yuan, H. S. and Li, B. D. 2007a Pathogenic wood-decaying fungi in China. For. Path. 37: 105-120.
- Dai, Y. -C., Yu, C. -J. and Wang, H. -C. 2007b Polypores from eastern Xizang (Tibet), western China. Ann. Bot. Fennici 44: 135-145.
- Dalman, K., Olson, Å. and Stenlid, J. 2010 Evolutionary history

- of the conifer root rot fungus *Heterobasidion annosum sensu lato*. Molecular Ecol. 19: 4979-4993.
- Daniel, G., Asiegbu, F. and Johansson, M. 1998 The saprotrophic wood-degrading abilities of *Heterobasidion annosum* intersterility groups P and S. Mycol. Res. 102: 991-997.
- Dart, N. L., Chastagner, G. A. and Peever, T. L. 2007 Spread of *Heterobasidion annosum* in Christmas tree plantations of the United States Pacific Northwest. Phytopathology 97: 551-556.
- Dettman, J. R. and van der Kamp, B. J. 2001 The population structure of *Armillaria ostoyae* and *Armillaria sinapina* in the central interior of British Columbia. Can. J. Bot. 79: 600-611.
- Doğmuş-Lehtijärvi, H. T., Lehtijärvi, A. and Korhonen, K. 2006 *Heterobasidion abietinum* on *Abies* species in western Turkey. For. Path. 36: 280-286.
- 土じょう部 1976 林野土壌の分類. 林試研報280: 1-28.
- Farjon, A. 1990 Pinaceae. Drawings and descriptions of the genera. : *Abies*, *Cedrus*, *Pseudolarix*, *Keteleeria*, *Nothotsuga*, *Tsuga*, *Cathaya*, *Pseudotsuga*, *Larix* and *Picea*. 330 pp. Koeltz Scientific Books, Köningstein, Germany.
- Felsenstein, J. 1985 Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39: 783-791.
- Fries, E. 1821 Systema mycologicum, sistens fungorum ordines, genera et species, huc usque cognitae quas ad normam methodi naturalis determinavit, disposuit atque descripsit, Vol. I. Sumptibus Ernesti Mauriti, Gryphiswaldie, 520 pp.
- Garbelotto, M., Orosina, W. J., Cobb, F. W. and Bruns, T. D. 1998 The European S and F intersterility groups of *Heterobasidion annosum* may represent sympatric protospecies. Can. J. Bot. 76: 397-409.
- Garbelotto, M., Cobb, F. W., Bruns, T. D., Orosina, W. J., Popenuck, T. and Slaughter, G. 1999 Genetic structure of *Heterobasidion annosum* in white fir mortality centers in California. Phytopathology 89: 546-554.
- Gilbertson, R. L. and Ryvarde, L. 1986 North American polypores I. pp. 343-345. Fungiflora, Oslo, Norway.
- Greig, B. J. W. 1998 Field recognition and diagnosis of *Heterobasidion annosum*. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. pp. 35-41. CAB International, Wallingford, UK.
- Greig, B. J. W. and Low, J. D. 1975 An experiment to control *Fomes annosus* in second rotation pine crops. Forestry 48: 147-163.
- Greig, B. J. W., Gibbs, J. N. and Pratt, J. E. 2001 Experiments on the susceptibility of conifers to *Heterobasidion annosum* in Great Britain. For. Path. 31: 219-228.
- Guillaumin, J. -J., Anderson, J. B., Legrand, P., Ghahari, S. and 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. 1993a Somatic incompatibility and nuclear reassortment in *Heterobasidion annosum*. Mycol. Res. 97: 1223-1228.
- Hansen, E. M., Stenlid, J. and Johansson, M. 1993b Genetic control of somatic incompatibility in the root-rotting basidiomycete *Heterobasidion annosum*. Mycol. Res. 97: 1229-1233.
- Harrington, T. C., Rizzo, D. M., Descenzo, R. A. and Steimel, J. 1998a Genetic relationships among clones of *Heterobasidion annosum* in a pine forest. In: Delatour, C., Guillaumin, J. J., Lung-Escarmant, B., Marçais, B., eds. Root and butt rots of forest trees. 9th International Conference on Root and Butt Rots. Les Colloques No. 89. pp. 159-170. INRA, Paris, France.
- Harrington, T. C., Stenlid, J. and Korhonen, K. 1998b Evolution in the genus *Heterobasidion*. In: Delatour, C., Guillaumin, J. J., Lung-Escarmant, B., Marçais, B., eds. Root and butt rots of forest trees. 9th International Conference on Root and Butt Rots. Les Colloques No. 89. pp. 63-74. INRA, Paris, France.
- Hattori, T. 2001 Type studies of the polypores described by E. J. H. Corner from Asia and West Pacific Areas III. Species described in *Trichaptum*, *Albatrellus*, *Boletopsis*, *Diacanthodes*, *Elmerina*, *Fomitopsis* and *Gloeoporus*. Mycoscience 42: 423-431.
- Hattori, T. 2003 Type studies of the polypores described by E.J.H. Corner from Asia and West Pacific Areas, VI. Species described in *Tyromyces* (3), *Cristelloporia*, *Grifola*, *Hapalopilus*, *Heterobasidion*, *Ischnoderma*, *Loweporus* and *Stecchericum*. Mycoscience 44: 453-463.
- Hattori, T., Abe, Y. and Usugi, T. 1996 Distribution of clones of *Phellinus noxius* in a windbreak on Ishigaki Island. Eur. J. For. Path. 26: 69-80.
- Hodges, C. S. 1969 Modes of infection and spread of *Fomes annosus*. Ann. Rev. Phytopathol. 7: 247-266.
- 北海道林務部 1976 川上天然林の解析 - 道有林池田形経営区 -. 経営試験業務資料No.29, 121 pp. 北海道林務部, 札幌
- 北海道林務部 1986 トドマツ枝枯病の現状とその対策 - 道有林における調査例 (調査年度 昭和56~58年) -. 業務参考資料. 95 pp. 北海道林務部, 札幌
- 北海道水産林務部総務課 (編) 2010 北海道森林づくり白書. 163 pp. 北海道水産林務部, 札幌
- Holdenrieder, O. and Greig, B. J. W. 1998 Biological methods of

- control. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. pp. 235-258. CAB International, Wallingford, UK.
- Holmgren, P. K., Holmgren, N. H. and Barnett, L. C. 1990 Index herbariorum, Part I: The herbaria of the world, 8th edition. 693pp. New York Botanical Garden, New York, USA.
- 五十嵐恒夫 1964 カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (X) 感染時期に関する研究 (予報). 日林北支講 12: 93-95.
- 五十嵐恒夫 1968 北海道における森林病害の問題点. 三島教授退職記念事業会 (編) 北海道林業の諸問題, pp.189-214. 日本林業調査会, 東京
- 五十嵐恒夫 1993 続 北海道のキノコ. 302pp. 北海道新聞社, 札幌
- 五十嵐恒夫 2006 北海道のキノコ. 375pp. 北海道新聞社, 札幌
- Igarashi, T. and Cheng, D. 1988 Fungal damage caused by *Racodium therryanum* to regeneration of Japanese larch by natural seeding. Res. Bull. Coll. Exp. For. Hokkaido Univ. 45: 213-219.
- 五十嵐恒夫・高岡 恭 1963a カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (IV) 造林地における各種農業用殺菌剤による防除試験 (予報). 第74回日林講: 287-289.
- 五十嵐恒夫・高岡 恭 1963b カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (V) 造林地におけるジチオ・カーバメート系およびその類縁殺菌剤による防除試験 (予報). 第74回日林講: 289-290.
- 五十嵐恒夫・高岡 恭 1963c カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (VI) 抗生物質の茎葉散布による防除試験 (予報). 第74回日林講: 290-293.
- 五十嵐恒夫・高岡 恭 1964a カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (XI) 散布回数と散布時期に関する検討. 日林北支講 12: 95-97.
- 五十嵐恒夫・高岡 恭 1964b カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (XII) 2年連続散布による効果について. 日林北支講 12: 97-98.
- 五十嵐恒夫・高岡 恭 1964c カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (XIV) 各種抗かび性抗生物質の防除効果の検討. 第75回日林講: 387-390.
- Igarashi, T. and Takeuchi, K. 1985 Decay damage to planted forest of Japanese larch by wood-destroying fungi in the Tomakomai Experiment Forest of Hokkaido University. Res. Bull. Coll. Exp. For. Hokkaido Univ. 42: 837-847.
- 五十嵐恒夫・高岡 恭・佐藤国夫 1964 カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (XIII) ヘリコプター散布による防除試験. 日林北支講 12: 99-100.
- 五十嵐恒夫・高岡 恭・松田 巧 1965 カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (XV) ヘリコプター散布による防除試験 (2). 第76回日林講: 306-308.
- 五十嵐恒夫・原田哲朗・中野末吉・高岡 恭 1967 カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (XVII) ヘリコプター散布による防除試験 (3). 第78回日林講: 224-225.
- 今関六也 1965 林木の材質腐朽病. 日植病報 31: 248-253.
- 今関六也・青島清雄 1955a 風害を誘発する立木の根株腐朽. 日林誌 37: 413-416.
- 今関六也・青島清雄 1955b 菌害. 石狩川源流原生林総合調査団 (編) 石狩川源流原生林総合調査報告, pp. 239-271. 旭川営林局, 旭川
- 今関六也・本郷次雄 (編著) 1989 原色日本新菌類図鑑II. 315 pp. 保育社, 大阪
- 伊藤一雄 1951 北海道の林業に於ける樹病の問題, 林業技術 117: 6-8.
- 伊藤誠哉 1955 日本菌類誌. 第2巻, 担子菌類 第4号. 450 pp. 養賢堂, 東京
- 伊藤進一郎・山田利博 1998 ナラ類集団枯損被害の分布と拡大. 日林誌 80: 229-232.
- Jeanmougin, F., Thompson, J. D., Gouy, M., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1998 Multiple sequence alignment with Clustal X. Trend. Biochem. Sci. 23: 403-405.
- Johannesson, H. and Stenlid, J. 2003 Molecular markers reveal genetic isolation and phylogeography of the S and F intersterility groups of the wood-decay fungus *Heterobasidion annosum*. Mol. Phy. Evol. 29: 94-101.
- Johannesson, H. and Stenlid, J. 2004 Nuclear reassortment between vegetative mycelia in natural populations of the basidiomycete *Heterobasidion annosum*. Fungal Genet. Biol. 41: 563-570.
- Johansson, S. M., Lundgren, L. N. and Asiegbu, F. O. 2004 Initial reactions in sapwood of Norway spruce and Scots pine after wounding and infection by *Heterobasidion parviporum* and *H. annosum*. For. Path. 34: 197-210.
- 亀井専次 1949 エゾタケに由る針葉樹心材腐朽に就いて. 北大農演報 14: 155-162.
- 亀井専次 1959 病害および菌害. 北海道風害森林総合調査団 (編) 北海道風害森林総合調査報告, pp. 231-290. 日本林業技術協会, 東京
- 亀井専次 1951 トドマツオオウズラタケに由るトドマツ及びアカエゾマツの心材腐朽. 北大農演報 15: 151-166.
- 亀井専次 1953 道北原生林針葉樹樹幹腐朽に就いて. 日林北支講 2: 45-48.
- 亀井専次・網倉俊雄 1953 エゾマツ生立木の心材褐色孔状腐朽に就いて. 北大農演報 16: 175-195.
- 亀井専次・星 司郎 1948 阿寒国有林内針葉樹赤色腐朽に就いて. 北大農演報 14: 144-176.

- 亀井専次・五十嵐恒夫 1959 カラマツ, トドマツその他針葉樹心材のハナビラタケによる腐朽について. 北大農演報 20: 77-92.
- Käärik, A. 1965 The identification of the mycelia of wood-decay fungi by their oxidation reactions with phenolic compounds. *Studia Forestalia Suecia* 31: 1-80.
- Karlsson, J. -O. and Stenlid, J. 1991 Pectic isozyme profiles of intersterility groups in *Heterobasidion annosum*. *Mycol. Res.* 95: 531-536.
- Keča, N. 2008 Distribution of *Heterobasidion* genets on a Norway spruce site: case study in national park 'KopaoNIK'. *Bull. Faculty For.* 98: 117-126.
- Korhonen, K. 1978 Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. *Commun. Inst. For. Fenn.* 94: 1-25.
- Korhonen, K. and Stenlid, J. 1998 Biology of *Heterobasidion annosum*. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. pp. 43-70. CAB International, Wallingford, UK.
- Korhonen, K., Fedorov, N. I., La Porta, N. and Kovbasa, N. P. 1997 *Abies sibirica* in the Ural region is attacked by the S type of *Heterobasidion annosum*. *Eur. J. For. Path.* 27: 273-281.
- Korhonen, K., Capretti, P., Karjalainen, R. and Stenlid, J. 1998a Distribution of *Heterobasidion annosum* intersterility groups in Europe. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. pp. 93-104. CAB International, Wallingford, UK.
- Korhonen, K., Delatour, C., Greig, B. J. W. and Schönhar, S. 1998b Silvicultural control. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. pp. 283-313. CAB International, Wallingford, UK.
- Korhonen, K., Dai, Y. -C., Hantula, J. and Vainio, E. 2003 Investigations on *Heterobasidion* in central and eastern Asia. In: Laflamme, G., Bérubé, J. A., Bussièrès, G., eds. *Root and Butt Rots of Forest Trees (Proc. 10th Int. Conf. on Root and Butt Rots, Québec City, 16-22 September 2001)*. Laurentian Forestry Centre, Information Report LAU-X-126, pp. 27-31. Sainte-Foy, Quebec, Canada.
- Krokene, P., Solheim, H. and Christiansen, E. 2001 Induction of disease resistance in Norway spruce (*Picea abies*) by necrotizing fungi. *Plant Path.* 50: 230-233.
- 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: 104-110.
- 黒田慶子 (編著) 2008 ナラ枯れと里山の健康. 林業改良普及双書 No.157. 東京, 全国林業改良普及協会, 166pp.
- Łakomy, P. and Werner, A. 2003 Distribution of *Heterobasidion annosum* intersterility groups in Poland. *For. Path.* 33 :105-112.
- La Porta, N., Capretti, P., Korhonen, K., Kammiovirta, K. and Karjalainen, R. 1997 The relatedness of the Italian F intersterility group of *Heterobasidion annosum* with the S group, as revealed by RAPD assay. *Mycol. Res.* 101: 1065-1072.
- Largent, D., Johnson, D. and Watling, R. 1977 How to identify mushrooms to genus III. Microscopic features. 148pp. Mad River Press, Eureka, California, USA.
- Lehtijärvi, A., Doğmuş-Lehtijärvi, H. T., Aday, A. G. and Oskay, F. 2010 The efficacy of selected biological and chemical control agents against *Heterobasidion abietinum* on *Abies cilicica*. *For. Path.* : Article first published online: DOI: 10.1111/j.1439-0329.2010.00705.x
- 前原紀敏 2000 微生物と線虫を利用する昆虫の繁殖戦略-マツノマダラカミキリによるマツノザイセンチュウの伝播-. 二井一禎・肘井直樹 (編著) 森林微生物生態学, pp. 196-207. 朝倉書店, 東京
- Majjala, P., Harrington, T. C. and Raudaskoski, M. 2003 A peroxidase gene family and gene trees in *Heterobasidion* and related genera. *Mycologia* 95: 209-221.
- Mitchelson, K. and Korhonen, K. 1998 Diagnosis and differentiation of intersterility groups. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. pp. 71-92. CAB International, Wallingford, UK.
- Morrison, D. J. and Johnson, A. L. S. 1999 Incidence of *Heterobasidion annosum* in precommercial thinning stumps in coastal British Columbia. *Eur. J. For. Path.* 29: 1-16.
- Morrison, D. J. and Redfern, D. B. 1994 Long-term development of *Heterobasidion annosum* in basidiospore-infected Sitka spruce stumps. *Plant Pathol.* 43: 897-906.
- Murrill, W. A. 1908 Additional Philippine Polyporaceae: *Trametes insularis* Murrill, sp. nov. *Bull. Torrey. Bot. Club* 35: 405.
- 中村克典 2010 北上するマツ材線虫病. *森林科学* 59: 35-38.
- Nei, M. and Li, W. -H. 1979 Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 5269-5273.
- Niemelä, T. and Korhonen, K. 1998 Taxonomy of the genus *Heterobasidion*. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. pp. 27-33. CAB International, Wallingford, UK.

- Nobles, M. K. 1958 A rapid test for extracellular oxidase in cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. *Can. J. Bot.* 36: 91-99.
- Nobles, M. K. 1965 Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. *Can. J. Bot.* 43: 1097-1139.
- 農林水産省 植物標準色票編集委員会 (編) 1987 日本園芸植物標準色票. 財団法人日本色彩研究所, 東京
- Núñez, M. and Ryvarden, L. 2001 East Asian polypores. Vol. 2. *Synopsis Fungorum* 14. 522 pp. Fungiflora, Oslo, Norway.
- 小口健夫 1970 カラマツ 3 種の生長と先枯病に対する罹病期間. 北海道林業試験場報告 8: 35-40.
- 小口健夫・五十嵐恒夫・高岡 恭 1963 カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (III) 苗畑における各種農業用殺菌剤による防除試験 (予報). 第74回日林講: 285-287.
- 小口健夫・五十嵐恒夫・高岡 恭 1964 カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (IX) シクロヘキシイミド (Cycloheximide) の防除効果と薬害について. 日林北支講 12: 90-92.
- 小野 馨 1954 層雲峡菌害木調査に同行して. 北方林業 69: 270-271.
- 小野 馨・横田俊一 1959 マツノネクチタケのトドマツに対する接種試験. 日林誌 41: 495-497.
- Ota, Y. and Hattori, T. 2008 Relationships among three Japanese *Laetiporus* taxa based on phylogenetic analysis and incompatibility tests. *Mycoscience* 49: 168-177.
- Ota, Y., Matsushita, N., Nagasawa, E., Terashita, T., Fukuda, K. and Suzuki, K. 1998 Biological species of *Armillaria* in Japan. *Plant Disease* 82: 537-543.
- Ota, Y., Tokuda, S., Buchanan, P. K. and Hattori, T. 2006 Phylogenetic relationships of Japanese species of *Heterobasidion-H. annosum sensu lato* and an undetermined *Heterobasidion* sp. *Mycologia* 98: 717-725.
- Ota, Y., Hattori, T., Banik, M.T., Hagedorn, G., Sotome, K., Tokuda, S. and Abe, Y. 2009 The genus *Laetiporus* (Basidiomycota, Polyporales) in East Asia. *Mycol. Res.* 113: 1283-1300.
- Otrosina, W. J. and Garbelotto, M. 2010 *Heterobasidion occidentale* sp. nov. and *Heterobasidion irregulare* nom. nov.: a disposition of North American *Heterobasidion* biological species. *Fungal Biol.* 114: 16-25.
- Otrosina, W. J., Chase, T. E., Cobb, F. W. Jr and Korhonen, K. 1993 Population structure of *Heterobasidion annosum* from North America and Europe. *Can. J. Bot.* 71: 1064-1071.
- Piri, T. 1996 The spreading of the S type of *Heterobasidion annosum* from Norway spruce stumps to the subsequent tree stand. *Eur. J. For. Path.* 26: 193-204.
- Piri, T. and Korhonen, K. 2001 Infection of advance regeneration of Norway spruce by *Heterobasidion parviporum*. *Can. J. For. Res.* 31: 937-942.
- Piri, T. and Korhonen, K. 2007 Spatial distribution and persistence of *Heterobasidion parviporum* genets on a Norway spruce site. *For. Path.* 37: 1-8.
- Piri, T. and Korhonen, K. 2008 The effect of winter thinning on the spread of *Heterobasidion parviporum* in Norway spruce stands. *Can. J. For. Res.* 38: 2589-2595.
- Piri, T., Korhonen, K. and Sairanen, A. 1990 Occurrence of *Heterobasidion annosum* in pure and mixed spruce stands in southern Finland. *Scand. J. For. Res.* 5: 113-125.
- Posada, D. and Crandall, K. A. 1998 Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- Posada, D. and Crandall, K. A. 2005 Modeltest 3.7. Program distributed by the author. Universidad de Vigo, Spain
- Pratt, J. E. 1998 Economic appraisal of the benefits of control treatments. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. pp. 315-331. CAB International, Wallingford, UK.
- Pratt, J. E., Johansson, M. and Hüttermann, A. 1998a Chemical control of *Heterobasidion annosum*. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. pp. 259-282. CAB International, Wallingford, UK.
- Pratt, J. E., Shaw III, C. G. and Vollbrecht, G. 1998b Modelling disease development in forest stands. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. pp. 213-233. CAB International, Wallingford, UK.
- Queloz, V. and Holdenrieder, O. 2005 Wie gross wird *Heterobasidion annosum* s.l.? -Ein literaturübersicht. *Schweiz. Z. Forstwes.* 156: 395-398. (in German with English summary)
- Ramsdale, M. and Rayner, A. D. M. 1996 Imbalanced nuclear ratios, post-germination mortality and phenotype-genotype relationships in allopartically-derived heterokaryons of *Heterobasidion annosum*. *New Phytol.* 133: 303-319.
- Rayner, A. D. M., Coates, D., Ainsworth, A. M., Adams, T. J. H., Williams, E. N. D. and Todd, N. K. 1984 The biological consequences of the individualistic mycelium. In: Jennings, D. H., Rayner, A. D. M., eds. *The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium*. pp. 509-540. Cambridge University Press, London, UK.
- Rishbeth, J. 1951 Observations on the biology of *Fomes annosus*, with particular reference to East Anglian pine plantations. II. Spore production, stump infection, and saprophytic activity

- in stumps. *Ann. Bot.* 15: 1-21.
- Rishbeth, J. 1957 Some further observations on *Fomes annosus* Fr. *Forestry* 30: 69-89.
- Rönneberg, J., Vollbrecht, G. and Thomsen, I. M. 1999 Incidence of butt rot in a tree species experiment in northern Denmark. *Scand. J. For. Res.* 14: 234-239.
- Sánchez, M. E., Luchi, N., Jiménez, J. J., De Vita, P., Sánchez, J. E., Trapero, A. and Capretti, P. 2007 An isolated population of *Heterobasidion abietinum* on *Abies pinsapo* in Spain. *For. Path.* 37: 348-356.
- Sanderson, M. J. and Shaffer, H. B. 2002 Troubleshooting molecular phylogenetic analyses. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 33: 49-72.
- 齊藤雄一・五十嵐恒夫・谷口三佐男・山口定一 1962a カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (I) -各種殺菌剤の茎葉散布による防除試験 (予報) -. 日林北支講 10: 67-69.
- 齊藤雄一・武藤憲由・五十嵐恒夫・谷口三佐男・高岡 恭 1962b カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (II) -シクロヘキシイミド (Cycloheximide) 油剤の樹幹塗布による防除試験 (予報) -. 日林北支講 10: 69-71.
- 佐々木克彦・松崎清一・林 康夫 1983 トドマツ間伐試験地における腐朽菌害. 第94回日林論: 543.
- 佐々木敏雄・横田俊一 1955 北海道演習林におけるトドマツ生立木の材質腐朽について. 演習林 10: 15-21.
- 佐々木敏雄・横田俊一 1956 北海道演習林におけるトドマツ生立木の材質腐朽について 第2報. 東大演報 52: 75-87.
- Stalpers, J. A. 1974 *Spiniger*, a new genus for imperfect states of Basidiomycetes. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wet., Ser. C* 77: 402-407.
- Stalpers, J. A. 1978 Identification of Wood-Inhabiting Fungi in Pure Culture. *Stud. Mycol.* 16. 248 pp. Baarn, Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Stalpers, J. A. 1996 The aphylophoraceous fungi II. Keys to the species of the Hericiales. *Stud. Mycol.* 40: 1-185.
- Stenlid, J. 1985 Population structure of *Heterobasidion annosum* as determined by somatic incompatibility, sexual incompatibility, and isoenzyme patterns. *Can. J. Bot.* 63: 2268-2273.
- Stenlid, J. 1987 Controlling and predicting the spread of *Heterobasidion annosum* from infected stumps and trees of *Picea abies*. *Scand. J. For. Res.* 2: 187-198.
- Stenlid, J. and Karlsson, J. -O. 1991 Partial intersterility in *Heterobasidion annosum*. *Mycol. Res.* 95: 1153-1159.
- Stenlid, J. and Redfern, D. B. 1998 Spread within the tree and stand. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A., eds. *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control.* pp. 125-141. CAB International, Wallingford, UK.
- Stenlid, J. and Swedjemark, G. 1988 Differential growth of S- and P-isolates of *Heterobasidion annosum* in *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 90: 209-213.
- Stenlid, J., Garbelotto, M., Kües, U., Anderson, J. B., Martin, F. and Solheim, H. 2008 Sequencing the genome of the forest pathogen *Heterobasidion annosum*. In: Garbelotto, M., Gonthier, P., eds. *Proceedings of the 12th International Conference on Root and Butt Rots of Forest Trees.* Berkeley, California-Medford, Oregon, 12th-19th August 2007. p. 69. The University of California, Berkeley, USA.
- Suyama, Y., Yoshimaru, H. and Tsumura, Y. 2000 Molecular phylogenetic position of Japanese *Abies* (Pinaceae) based on chloroplast DNA sequences. *Mol. Phyl. Evol.* 16: 271-277.
- Swedjemark, G. and Stenlid, J. 1993 Population dynamics of the root rot fungus *Heterobasidion annosum* following thinning of *Picea abies*. *Oikos* 66: 247-254.
- Swedjemark, G. and Stenlid, J. 1995 Susceptibility of conifer and broadleaf seedlings to Swedish S and P strains of *Heterobasidion annosum*. *Plant Path.* 44: 73-79.
- Swedjemark, G. and Stenlid, J. 2001 A highly diverse population of *Heterobasidion annosum* in a single stump of *Picea abies*. *Mycol. Res.* 105: 183-189.
- Swofford, D. L. 2001 PAUP 4.0: Phylogenetic Analysis using Parsimony Beta version 8. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
- Swofford, D. L. 2002 PAUP*: Phylogenetic Analysis using Parsimony (* and other Methods) . 4.0b10. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
- 高岡 恭・五十嵐恒夫 1964 カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (VIII) シクロヘキシイミド (Cycloheximide) 配合剤に関する検討. 日林北支講 12: 87-90.
- 高岡 恭・五十嵐恒夫・小口健夫 1964 カラマツ先枯病の薬剤防除に関する研究 (VII) 各種農業用殺菌剤による防除効果について. 日林北支講 12: 84-87.
- 田中 潔 1984 北海道におけるトドマツ枝枯病の最近の被害状況. 森林防疫 33: 78-83.
- 館脇 操・五十嵐恒夫 1977 阿寒国立公園の植生. 149 pp. 帯広営林局, 帯広
- Teng, S. C. 1964 *Fungi of China.* 808 pp. Science Press, Beijing, China (In Chinese) .
- 東北林業試験研究機関連絡協議会森林保全部会 2008 東北地方におけるマツ材線虫病とマツノマダラカミキリの分布変遷. 森林総合研究所研究報告 7: 139-158.
- 徳田佐和子 2010 針葉樹の根株心腐病菌マツノネクチタケと近縁種カラナシレンガタケ (新称) について. 森林防疫

- 680: 180-184.
- 徳田佐和子・小野寺賢介 2011 根株心腐病菌マツノネクチタケの国内における分布と宿主. 第122回日本森林学会大会 学術講演集 (CD)
- Tokuda, S., Ota, Y. and Hattori, T. 2005 Spatial distribution of *Heterobasidion annosum* clones in a Todo fir stand. 日米菌学会合同大会 (ハワイ大会) プログラム・講演要旨集: 206-207.
- Tokuda, S., Ota, Y. and Hattori, T. 2007 Root and butt rot of Todo fir (*Abies sachalinensis*) caused by *Heterobasidion annosum* s.l. in Hokkaido, Japan. For. Path. 37: 155-166.
- Tokuda, S., Ota, Y. and Hattori, T. 2008 Morphology and ecology of three *Heterobasidion* spp. from Japan. In: Garbelotto, M., Gonthier, P., eds. Proceedings of the 12th International Conference on Root and Butt Rots of Forest Trees. Berkeley, California-Medford, Oregon, 12th-19th August 2007. pp. 2-5. The University of California, Berkeley, USA.
- Tokuda, S., Hattori, T., Dai, Y. -C., Ota, Y. and Buchanan, P. K. 2009 Three species of *Heterobasidion* (Basidiomycota, Hericiales), *H. parviporum*, *H. orientale* sp. nov. and *H. ecrustosum* sp. nov. from East Asia. Mycoscience 50: 190-202.
- Tokuda, S., Ota, Y., Hattori, T., Shoda-Kagaya, E. and Sotome, K. 2011 The distribution of closely related large genets of *Heterobasidion parviporum* in a Todo fir (*Abies sachalinensis*) stand in Hokkaido, Japan. For. Path. 41: 482-492.
- Vasiliauskas, R. and Stenlid, J. 1998 Spread of S and P group isolates of *Heterobasidion annosum* within and among *Picea abies* trees in central Lithuania. Can. J. For. Res. 28: 961-966.
- Vidaković, M. 1991 Conifers. Morphology and variation. 756 pp. CAB International, Wallingford, UK.
- Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R. and Hüttermann, A. 1998 *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. 589 pp. CAB International, Wallingford, UK.
- Worrall, J. J., Sullivan, K. F., Harrington, T. C. and Steimel, J. P. 2004 Incidence, host relations and population structure of *Armillaria ostoyae* in Colorado campgrounds. For. Ecol. Manag. 192: 191-206.
- Yokota, S. 1956 Observations on the butt rot of Sakhalin fir (*Abies sachalinensis* Mast.) in the Tokyo University Forest, Hokkaido, with special reference to infection and propagation of decay. Bull. Tokyo Univ. For. 52: 165-171.
- 横田俊一 1957 北海道演習林における生立木の材質腐朽について 第3報 オニトド (オニハダトドマツ) の材質腐朽について. 東大演報 53: 139-148.
- 横田俊一 1959 トドマツの根株腐朽と風害との関係について. 北方林業 120: 82-83.
- 横田俊一 1960 東京大学秩父演習林におけるツガ及びビロメツガ天然林の根株腐朽について. 演習林 13: 12-18.
- Yokota, S. 1966 Ecological studies on *Guignardia laricina* (Sawada) W. Yamamoto et K. Ito, the causal fungus of the shoot blight of larch trees, and climatic factors influencing the outbreak of the disease. Bull. Gov. For. Exp. Sta. 184: 1-79.
- Zamponi, L., Paffetti, D., Tegli, S., Łakomy, P. and Capretti, P. 2007 Genetic variation in *Heterobasidion abietinum* populations detected with the M13 minisatellite marker. For. Path. 37: 321-328.

Summary

Heterobasidion annosum (Fr.) Bref. *sensu lato* is one of the most serious pathogens that cause root and butt rot in coniferous trees throughout the boreal and temperate regions of the Northern Hemisphere. However, Japanese species of this fungus have not been well investigated. The aims of the studies this thesis is based upon were to clarify the taxonomy and ecology of *H. annosum* s.l. in Japan, providing fundamental knowledge for understanding and controlling Annosum root disease in the country.

In a first series of investigations I explored the phylogenetic relationships of three *Heterobasidion* species from East Asia using three gene loci. In addition, I examined, described and illustrated both dried specimens and pure cultures of the species. The results indicate that Japanese *H. annosum* s.l. is closely related to *H. parviporum* (European S-group), but forms a subclade of *H. parviporum* in phylogenetic trees and slightly differs from the European forms morphologically. An East Asian species widely known as "*H. insulare*" was revealed to be a new species of the genus and re-named *H. orientale*. The undetermined *Heterobasidion* sp. was also revealed to be a new species. This fungus was closely related to Australasia species *H. araucariae* and I gave the fungus the name *H. ecrustosum*.

In a second study the occurrence and symptoms of root and butt rot were examined in a 35 × 30 m plot in a 68-year-old *Abies sachalinensis* (Todo fir) plantation in eastern Hokkaido. Forty-seven percent of the cut stumps were decayed and 52% of the decayed stumps showed similar decay characteristics, with yellowish orange to light brown coloration and expanded pockets in the heartwood. No mortality or tree decline was observed in or around the study site, and growth rings of decayed Todo fir trees in the plot were well-developed and comparable to those of healthy trees. Isolates from decayed parts of damaged trees were identified as *H. parviporum* based on both morphological characteristics of pure cultures and DNA analysis. This is the first reported molecular determination of *H. annosum* s.l. isolates from

root and butt rot infected trees in a Japanese plantation.

Thirdly, the distribution of *H. parviporum* genets was studied in a 68-year-old Todo fir plantation using three distinct methods: somatic incompatibility, random amplification of polymorphic DNA (RAPD), and microsatellite DNA analyses. Thirty-three isolates of *H. parviporum* from diseased Todo fir stumps within a 60 × 100 m plot were examined and the combined results of the three analyses identified eight genets within the plot. A single genet infected 1–15 trees and the longest distance of the two most isolated trees of a single genet was 51 m. The close genetic relationships between the genets and their large sizes suggest that basidiospores from restricted sources infected the site before establishment of the present stand and that the disease has spread mainly by vegetative growth of the mycelia through root contact.

My results suggest that Japanese *H. parviporum* has different ecological characteristics from European populations. Forest management in damaged areas should focus on preventing primary infection from old stumps and vegetative spread of the fungus via root contact. Selective cutting, clear-felling small units and establishment of multi-storied stands (all of which are widely recommended practices for the sustainable management of Todo fir plantations) may increase opportunities for the pathogen to spread vegetatively. Such practices should be curtailed in favor of techniques that avoid the vegetative spread of the fungus at sites where there is severe *Heterobasidion* root and butt rot damage.

Key words: *Heterobasidion parviporum*, taxonomy, root and butt rot, *Abies sachalinensis*, genet determination