

## C-2 酸性・汚染物質の環境生命系に与える影響に関する研究

### (4) 環境酸性化の腐朽菌に及ぼす影響に関する研究

環境庁国立環境研究所

水土壤圏環境部

土壤環境研究室

服部浩之

地球環境研究グループ

酸性雨研究チーム

佐竹研一

平成8-10年度合計予算額 14,781千円

#### [要 旨]

北関東山岳地帯の樹木の立ち枯れの原因の一つとして、ナラタケによる被害が上げられている。本研究では、ナラタケによる被害の実態、酸性雨がナラタケによる被害に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、赤城山、日光のナラタケ被害地の土壤の性質を調べ、さらにこれら山岳地帯のナラタケの性質を調べた。

赤城山、日光の立ち枯れ樹木の多くにナラタケの根状菌糸束が観察された。土壤pHは植生によって異なったが、健全木と立ち枯れ木の下での土壤のpHは大差なく、広葉樹で約4.5（赤城山）、約5.0（日光）、針葉樹で約4.1（日光）であり、いずれもナラタケの生長に適したpHであった。また、pHが低い土壤ほど土壤中の糸状菌数/細菌数の比が高くなる傾向にあった。

日光及び丹沢の立ち枯れ樹木から計11点のナラタケの菌糸を採取し、その培養的性質について検討した結果、これらのナラタケはPDA培地で根状菌糸束を形成せず、培地を着色するなど、感染力の最も強い*Armillaria mellea*の形状と大きく異なった。また、日光及び丹沢の山岳地帯の立ち枯れ樹木に感染しているナラタケの感染力を調べるため、これらのナラタケの菌糸及び*A. mellea*の菌糸をカラマツの幼樹を植えたポットの土に接種し、カラマツの症状を観察した。その結果、*A. mellea*を接種したカラマツは5本中3本が枯れたが、日光や丹沢から採取したナラタケを接種したカラマツは枯れなかった。また、丹沢のナラタケの種を同定するため、子実体を形成させ、形状を調べたが、種の同定には至らなかった。しかし、その子実体の形状が*A. mellea*の子実体と異なるのは明らかであった。以上のことから、日光や丹沢などの山岳地帯の立ち枯れ樹木に感染しているナラタケは、健全な樹木にも感染する*A. mellea*ではなく、感染力も*A. mellea*より弱いことから、これらのナラタケは何らかの要因で衰退しつつある樹木に感染しそれらの樹木を枯死させていると推定された。

[キーワード] 酸性化, 森林被害, 土壤, ナラタケ, 腐朽菌

## 1. はじめに

全国各地で樹木の立ち枯れが問題となっているが、その原因の一つとして、酸性雨の影響が上げられている。酸性雨の樹木への影響としては、樹木への直接的な影響、あるいは土壌の酸性化による養分の溶脱や有害な成分の溶出などが考えられており、このような角度からの研究が進められている。一方、環境中にはさまざまな腐朽菌が生息し、生態系の中で重要な役割を担っている。特に、植物と密接な関係にあり、植物遺体を分解して無機養分を供給したり、あるいは病原菌として、植物に感染して被害をもたらす。このように腐朽菌は植物と極めて密接な関係があるにもかかわらず、これまで酸性雨の腐朽菌への影響や腐朽菌への影響を通しての植物影響については、ほとんど研究がなされてこなかった。そこで、本研究では、腐朽菌として、樹木の代表的な病原菌であるナラタケを主に取り上げ、ナラタケの樹木の立ち枯れへの寄与、それに及ぼす酸性雨の影響について明らかにすることを目的として研究を行った。北関東山岳地域の立ち枯れ樹木の多くが、ナラタケによって感染されており、また室内培養試験の結果、ナラタケの増殖は酸性環境の方が適していると考えられている<sup>1)</sup>。調査地域は、赤城山、日光及び丹沢とし、ナラタケ被害地土壌の性質、立ち枯れ樹木に感染しているナラタケの培養的性質、感染力などを調べ、ナラタケが樹木の立ち枯れをもたらす可能性について検討した。

## 2. 研究方法

### (1) 現地土壌調査

#### ①土壌の採取

赤城山、日光の立ち枯れ樹木の多い地帯の土壌調査を行った。赤城山の調査は、最も立ち枯れが多く見られる地蔵岳で行った。また、日光の調査は、男体山北部の志津峠、金精峠から念仏平にかけての地帯、さらに五色沼から奥白根山、前白根山の一带で行った。土壌は、表層の落ち葉等の有機物層を除いた後、約5cmの深さまで採取した。採取地点は、赤城山が35ヶ所、日光が24ヶ所であった。また、赤城山の4ヶ所では、表層から20cm以上の深さの下層土も採取した。

#### ②土壌pH及び微生物数の測定

土壌pHは常法<sup>2)</sup>により、pH(H<sub>2</sub>O)とpH(KCl)を測定した。微生物数は、希釈平板法<sup>3)</sup>により、細菌数と糸状菌数を測定した。

#### ③土壌の硝化活性

赤城山の土壌2点、日光の土壌3点の硝化活性を測定した。土壌20g(乾土重として)に硫酸アンモニウム18.9mgを添加し(NH<sub>4</sub>-N 200mg/kg 乾土)、混合した後、25℃で8週間培養した。培養開始直後と終了時に土壌中のアンモニア態窒素(NH<sub>4</sub>-N)と硝酸態窒素(NO<sub>3</sub>-N)の含量を測定し、培養期間中の増加量を求めた。NH<sub>4</sub>-Nは、土壌2gに10%塩化カリウム液20mlを加えて、30分間振とう後ろ過して抽出し、ろ液中の含量をインドフェノール法を利用した自動分析法により測定した。NO<sub>3</sub>-Nは、土壌2gに純水20mlを加えて、30分間振とう後ろ過して抽出し、ろ液中の含量をヒドラジン-銅還元、スルファニルアミド-ナフチルエチレンジアミン比色法を利用した自動分析法により測定した。

### (2) 山岳地帯のナラタケの性質

### ①ナラタケ菌糸の採取

ナラタケの菌糸の採取は、日光及び丹沢で行った。日光は五色沼周辺で8点、丹沢は塔ノ岳～蛭ガ岳～桧洞丸で5点の菌糸を採取した。採取樹木、採取地点を表1に示した。採取にあたっては、立ち枯れ樹木および倒木の樹皮を剥いで、形成層に侵入している根状菌糸束を採取した。赤城山でも菌糸の採取を行ったが、生きた菌糸は採取できなかった。

### ②ナラタケ菌糸の培養的性質

pHと菌糸の成長速度との関係及び温度と菌糸の成長速度との関係を日光1と丹沢1の菌糸を用いて調べた。採取したナラタケの菌糸束の表皮を剥いで、内部の雑菌の混入していない菌糸を麦芽エキス寒天培地に接種し、25℃で培養した。ナラタケの菌糸が生長し、雑菌の汚染がないのを確認後、実験に供した。

pHと菌糸の生長速度との関係は、素寒天培地（寒天1.5%）を用いて調べた。培地が固化する前に、1M 硫酸液及び1M 水酸化ナトリウム液を、培地のpHが2～9の範囲（約0.5刻み）になるように添加した。これらの培地にナラタケの菌糸を接種後、25℃で4週間培養し、1週ごとに菌糸の長さを測定した<sup>1)</sup>。また、培養開始時の培地のpHを、酸化イリジウムpH電極で測定した。

温度と生長速度との関係は、素寒天培地（pH約6.0）に菌糸を接種し、5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃でそれぞれ4週間培養し、1週ごとに菌糸の長さを測定して調べた。

これらの実験は3連で行い、結果は平均値で示した。

### ③培地上での菌糸の形状

ポテトデキストロース寒天培地（以下PDA培地と略す、Difco製PDA試薬39gを純水1Lに添加し調製）に日光で採取したナラタケ8種及び丹沢で採取したナラタケ5種の菌糸を接種し、25℃で8週間培養した。また、ナラタケの一種、*Armillaria mellea*（財団法人発酵研究所より分譲、No.31166）についても同様に接種し培養した。8週後にこれらの菌糸の形状（根状菌糸束の形成の有無、培地の着色）を観察した。

### ④ナラタケ菌糸の感染試験

日光1及び丹沢1の菌糸を麦芽エキス寒天培地に接種し、25℃で培養した。ナラタケの菌糸が生長し、雑菌の汚染がないのを確認後、実験に供した。また、財団法人発酵研究所から分譲された *Armillaria mellea* も実験に用いた。

これらの菌を、あらかじめ滅菌したコナラの枝（長さ約5cm）を入れた2%麦芽エキス培地に接種し、25℃で約3週間培養した。培養終了後にナラタケ菌糸が蔓延したコナラの枝を取り出し、枝についている麦芽エキス液を水道水で洗浄した。

赤玉土を入れたポット20個に2年目のカラマツの苗を植え、25℃の温室で約3ヵ月間栽培した。かん水は週3回水道水で行った。これらのポットの土にナラタケの菌糸を蔓延させたコナラの枝を約3cmの深さまで差し込んだ。差し込んだ位置はカラマツの幹から約5cm離れた地点で、根に十分到達した。20個のポットのうち、5個に日光の菌、5個に丹沢の菌、5個に *A. mellea* を接種し、5個のポットは対照とし菌を接種しなかった。菌を接種後、同じ温室で約5ヶ月間栽培しこの間カラマツの症状を観察した。かん水は週3回行った。

### ⑤ナラタケ子実体の形成

直径約10cm、長さ約20cmのブナの幹をオートクレーブで滅菌した。この幹を滅菌した2%麦芽エキス液約50ml入れた2Lビーカーに入れ、幹の下部を液に浸した。この麦芽エキス液に丹沢1の

ナラタケの菌糸を接種し、25℃で培養した。約3ヶ月後に菌糸が蔓延したブナの幹を取り出し、麦芽エキス液を水道水で洗浄後、屋外の木陰の土壌の上に置き子実体を形成させた（10～11月）。

### 3. 結果及び考察

#### (1) 現地土壌調査

##### ①土壌pHおよび土壌微生物数

赤城山の樹木はミズナラ、シラカンバなどの広葉樹が主で、林床にはササが密生していた。立ち枯れの多い所が数カ所あったが、いずれもかなり以前に枯れたものであり、形成層が残っている樹木の多くにはナラタケの根状菌糸束が観察された。標高の高い所及び東側斜面には樹木はなく、ササ、あるいはイネ科の植物が優占していた。採取した土壌のpHと細菌数、糸状菌数を表1に示した。表中のNo. は土壌を採取した順番であり、番号が近い土壌ほどより近傍の土壌である。土壌のpH (H<sub>2</sub>O) は4.13～5.79で、植生によって値が異なる傾向がみられた。そこで、植生ごとに結果をまとめて表2に示した。植生が広葉樹の土壌のpH (H<sub>2</sub>O) は約4.5で、立ち枯れ樹木と健全木で差はみられなかった。植生がササやイネ科植物の土壌のpHはそれぞれ約5、5.5と広葉樹林の土壌pHに比べて高めであった。土壌中の微生物数は、土壌によってばらついたが、pHとの関係を見ると、pHが低い土壌ほど細菌と糸状菌の比が小さくなる傾向がみられた。

日光の調査地点は赤城山より標高が高く、ほとんどの地点が標高2000m以上であったため、植相も広葉樹（ダケカンバが主）のほか、針葉樹（オオシラビソが主）も多かった。この地域でも立ち枯れ樹木は多くみられ、特に、念仏平のオオシラビソ、奥白根山の南側斜面のダケカンバでまとまって枯れていた。これらもかなり以前に枯れたものが多く、形成層が残っている樹木にはナラタケの根状菌糸束が観察されのものが多かった。土壌pHは赤城山と同様、植生によって異なる傾向にあったので、植生ごとにまとめて表3に示した。針葉樹では約4.1と低く、広葉樹では約5.0と高めであったが、健全木と立ち枯れ木で差はみられなかった。また、pHの低い針葉樹のほうが、土壌中の糸状菌数と細菌数との比は高く、赤城山と同じ結果であった。

以上のように、赤城山、日光とも立ち枯れ木と健全木の土壌pHには差がみられなかったが、いずれもナラタケの生長に適したpHであった。また、pHが低い土壌ほど土壌中の糸状菌の割合が高くなる傾向があることから、細菌との相互作用を考慮すると<sup>1)</sup>、土壌の酸性化は、糸状菌であるナラタケの生長を促進する可能性もあると考えられる。

##### ②土壌の硝化活性

土壌が酸性化した場合、土壌の種々の活性のうち、アンモニアから硝酸への変化、すなわち硝化活性が最も影響を受けやすい。そこで、赤城山や日光の土壌が正常な硝化活性を保持しているかどうかについて検討した。落葉などの有機物に含まれる窒素は土壌中の腐朽菌などの微生物の作用によって、有機態窒素→NH<sub>4</sub>-N→NO<sub>3</sub>-Nと変化し、無機態のNH<sub>4</sub>、NO<sub>3</sub>は植物によって吸収される。土壌中の有機態窒素からNH<sub>4</sub>-Nへの変化、さらにNH<sub>4</sub>-NからNO<sub>3</sub>-Nへの変化を調べるため、赤城山および日光の土壌に硫酸アンモニウムを添加して8週間培養し、この間のNH<sub>4</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N量の変化を調べた。表4に実験開始直前の土壌pHと土壌中のNH<sub>4</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N量の変化（培養8週後と培養開始直後の差）を示した。

表1 赤城山土壤のpHと微生物数

No.	植生	pH (H <sub>2</sub> O)	pH (KCl)	細菌数 ( $\times 10^6$ /g)	糸状菌数 ( $\times 10^4$ /g)	細菌数/糸状菌数
1	広葉樹*	4.37	4.16	9.88	14.1	70.1
2	広葉樹	4.36	3.90	7.74	24.5	31.6
3	広葉樹*	4.51	4.07	4.96	5.94	83.5
4	広葉樹	4.36	3.76	8.25	14.8	55.7
5	広葉樹*	4.48	3.88	3.79	11.7	32.4
6	広葉樹*	5.05	4.39	1.34	3.82	35.1
7	広葉樹*	4.74	4.05	2.71	3.66	74.0
8	下層	4.99	4.30	2.69	3.23	83.3
9	ササ	4.80	4.27	4.27	9.08	47.0
10	ササ	4.89	4.22	9.08	17.4	52.2
11	ササ	4.64	4.25	2.96	5.65	52.4
12	イネ科	5.60	4.68	7.75	6.83	113.5
13	イネ科	5.25	4.50	5.19	8.16	63.6
14	イネ科	5.58	4.65	7.81	11.5	67.9
15	イネ科	5.79	4.75	1.56	0.66	236.4
16	イネ科	5.60	4.60	3.54	4.21	84.1
17	広葉樹	4.93	4.50	5.30	6.46	82.0
18	広葉樹	4.78	4.08	17.1	10.0	171.0
19	イネ科	5.09	4.51	3.52	3.85	91.4
20	ササ	5.66	4.50	3.57	4.03	88.6
21	広葉樹	4.78	4.20	5.03	8.63	58.3
22	広葉樹	4.17	3.90	4.42	11.3	39.1
23	ササ	4.87	4.33	6.00	5.02	119.5
24	ササ	5.39	4.60	5.85	8.73	67.0
25	ササ	5.12	4.40	4.93	4.17	118.2
26	イネ科	5.20	4.41	8.12	9.80	82.9
27	下層	6.16	4.93	0.61	0.12	508.3
28	広葉樹*	4.13	3.89	5.70	13.9	41.0
29	広葉樹*	4.18	3.79	6.19	12.2	50.7
30	広葉樹	4.49	3.80	7.51	10.4	72.2
31	広葉樹*	4.83	4.09	3.78	4.46	84.8
32	下層	5.37	4.41	2.65	1.35	196.3
33	下層	5.48	4.65	1.26	0.44	286.4
34	広葉樹	4.66	4.21	5.15	10.6	48.6
35	広葉樹	4.87	4.16	4.57	8.93	51.2

\*ナラタケ被害木

表2 赤城山の土壌pHと土壌微生物数の植生ごとの平均値

植生	試料数	pH(H <sub>2</sub> O)	pH(KCl)	細菌 <sup>2)</sup>	糸状菌 <sup>3)</sup>	B/F <sup>4)</sup>
広葉樹 <sup>1)</sup>	8	4.54 (4.13~5.05)	4.04	4.79	8.72	58.8
広葉樹	9	4.60 (4.17~4.93)	4.06	7.23	11.7	66.7
ササ	7	5.05 (4.64~5.66)	4.37	5.24	7.72	71.4
イネ科	7	5.44 (5.09~5.79)	4.59	5.36	6.43	106.4
下層土	4	5.50 (4.99~6.16)	4.57	1.80	1.29	270.3

<sup>1)</sup> 被害木, <sup>2)</sup>  $\times 10^6/g$ , <sup>3)</sup>  $\times 10^4/g$ , <sup>4)</sup> 糸状菌数/細菌数

表3 日光の土壌pHと土壌微生物数の植生ごとの平均値

植生	試料数	pH(H <sub>2</sub> O)	pH(KCl)	細菌 <sup>2)</sup>	糸状菌 <sup>3)</sup>	B/F <sup>4)</sup>
針葉樹*	6	4.19 (3.88~4.44)	3.27	0.89	6.75	13.2
針葉樹	10	4.10 (3.74~4.62)	3.11			
広葉樹*	6	5.16 (4.38~6.69)	4.09	3.31	1.88	175.4
広葉樹	3	4.95 (4.55~5.33)	4.05			

<sup>1)</sup> 被害木, <sup>2)</sup>  $\times 10^6/g$ , <sup>3)</sup>  $\times 10^4/g$ , <sup>4)</sup> 糸状菌数/細菌数

表4 赤城山および日光の土壌のpHと無機態窒素量の変化

地名	植生	pH	NH <sub>4</sub> -N増加量 (mg/kg)	NO <sub>3</sub> -N増加量 (mg/kg)	無機態N増加量 (mg/kg)
赤城山	広葉樹	4.14	-96.1	312.9	217
赤城山	下層	4.71	-194.4	288.1	94
日光	オオシラビソ (0層)	5.08	488.9	0.9	490
日光	オオシラビソ (A層)	4.56	74.8	9.8	85
日光	ダケカンバ (A層)	4.53	160.4	31.9	192

赤城山の土壌はpHが5以下の低い土壌を実験に用いたが、8週間でNH<sub>4</sub>-Nは減少し、NO<sub>3</sub>-Nが増加していることから、硝化は正常に進行していると考えられる。一方、日光の土壌は、いずれの土壌でもNH<sub>4</sub>-Nが大きく増加しているのに対して、NO<sub>3</sub>-Nの増加量は極端に少なかった。特に、植生がオオシラビソの土壌ではNO<sub>3</sub>-Nの増加量は10mg/kg以下と少なく、ほとんど硝化が進んでいないことを示している。NH<sub>4</sub>-Nは増加していることから、有機態窒素→NH<sub>4</sub>-Nへの変化は正常に進行し、NH<sub>4</sub>-Nが蓄積していると考えられる。土壌pHは赤城山の土壌より日光の土壌の方が高いことから、硝化が進んでいない原因は単にpHの問題ではないかも知れない。本実験では測定試料数が少なく日光の土壌で硝化活性が少ない原因を明らかにすることはできなかったが、今後、植生や地形の影響など総合的に解析する必要があると思われる。一般に、NH<sub>4</sub>-NよりNO<sub>3</sub>-Nを好む植物が多く、また、NH<sub>4</sub>-Nは土壌から溶脱しにくいいため、NH<sub>4</sub>-NからNO<sub>3</sub>-Nへの変化が阻害された場合、土壌中にNH<sub>4</sub>-Nが蓄積し、植生に影響を及ぼすことも考えられるので、森林土壌の硝化活性とそれに及ぼす要因を明らかにすることは必要であろう。

## (2) 山岳地帯のナラタケの性質

### ①ナラタケ菌糸の培養的性質

ナラタケは幾つかの生物種からなる複合種と考えられ、欧米では数種類に分類されている<sup>4) 5)</sup>。日本でも分類が試みられている<sup>6)</sup>が、分類法は十分に確立していない。ナラタケの種類によって、分布や病原性が異なることから<sup>5)</sup>、日本の山岳地帯の立ち枯れ樹木にみられるナラタケがどのような性質のナラタケであるのかを明らかにしておくことは重要である。そこで、まず丹沢の広葉樹、及び日光の針葉樹から分離したナラタケのpH特性、温度特性について調べた。

その結果、丹沢、日光のナラタケともpH3以上で生長可能であることが認められた。丹沢と日光のナラタケを比較すると、丹沢のナラタケの方がより高いpHで生長が良い傾向にあり、pH4.5~8範囲で生長が良く、8以上でも生長可能であった。これに対して、日光のナラタケは、より酸性の方が生長に適して、pH4~6の範囲で生長が良く、8以上では生長しなかった。これは、日光の針葉樹の土壌pHが約4.1と低いのにに対して、丹沢の広葉樹の土壌のpHは約6と高いことと関係があるのかもしれない。

温度と生長速度との関係を見ると、5℃~25℃では、両菌の生長速度に差はみられなかったが、30℃以上の高温では日光のナラタケの生長が悪く、35℃では全く生長しなかった。日光の方が標高が高く、気温が低いことと対応しているのかもしれない。このように、丹沢と日光のナラタケの性質は異なることから、両菌は別種の菌である可能性もある。ナラタケの種類によって、樹木に対する病原性や宿主が異なるので<sup>5)</sup>、ナラタケによる樹木被害を解明するには、まず、これら日本の山岳地帯のナラタケの分類、各菌の病原性や分布等を明らかにすることが必要であろう。

### ②ナラタケの菌糸の培地上での形状

前述のように、ナラタケの感染力はナラタケの種類によって異なる。したがって、関東周辺の日光や丹沢などの山岳地帯の立ち枯れへのナラタケの寄与を知るには、これらのナラタケがどのくらいの感染力をもっているのかを明らかにしておく必要がある。ナラタケの中で、*Armillaria mellea*が最も感染力が強い菌であることが知られており、健全な針葉樹、広葉樹にも感染する。その他、*A. ostoyea*が広葉樹に対しては感染力が弱いものの、針葉樹に対しては*A. mellea*と同等以

上の感染力をもっていることが知られている。それら以外のナラタケは感染力は弱く、何らかの原因で衰退しつつある樹木にのみ感染する。したがって、山岳地帯の立ち枯れ樹木に感染しているナラタケが*A. mellea*であれば、健全な樹木に感染して枯らした可能性が高いし、それ以外のナラタケであれば、何らかの原因で衰退しつつある樹木に感染して枯らした可能性が高くなる。

ナラタケの分類については、日本では十分に確立していない。そこで、日光および丹沢の立ち枯れ樹木の形成層に侵入していたナラタケの菌糸を培養し、その形状を調べ、最も感染力の強い*A. mellea*の形状と比較することにより、これら山岳地帯のナラタケが*A. mellea*であるかどうかについて検討した。その結果を表5にまとめた。日光、丹沢で採取した菌はすべてPDA培地を黒褐色に着色したが、*A. mellea*では着色がみられなかった。また、*A. mellea*は根状菌糸束を形成するのに対して、採取した菌は1種類を除いて菌糸束を形成しなかった。同じ種類の菌でも培地上での菌糸の形状は異なることもあり、菌糸の形状のみでは、種を同定することはできないが、少なくとも*A. mellea*はPDA培地上で根状菌糸束を形成することが知られている<sup>3)</sup>。したがって、日光、丹沢の立ち枯れ樹木に感染しているナラタケのほとんどは*A. mellea*ではないと考えられる。このことから、日光や丹沢のナラタケは何らかの原因で衰退しつつある樹木に感染し、その樹木を枯らした可能性が高いと考えられる。

表5 ナラタケ菌糸の培養的性質

採取地	採取樹種	根状菌糸束の形成	培地の着色	
日光1	オオシラビン	—	+	
	2	倒木	—	+
	3	オオシラビン	—	+
	4	オオシラビン	—	+
	5	ダケカンバ	—	+
	6	オオシラビン	—	+
	6	オオシラビン	—	+
	8	ミヤマハンノキ	—	+
丹沢1	広葉樹	—	+	
	2	広葉樹	—	+
	3	広葉樹	+	+
	4	広葉樹	—	+
	5	ブナ	—	+
<i>A. mellea</i>		+	—	

### ③ナラタケ菌の感染力

カラマツの幼樹に、日光の菌、丹沢の菌、*A. mellea*を接種し、その後のカラマツの症状を観察した結果を表6に示した。*A. mellea*を接種したカラマツ5本のうち3本では接種後約3ヶ月後に下



葉から急速に褐色に変化し、1週間以内に全葉が褐色になった。それらの幼樹を掘り出し樹皮を剥いで見ると、白い菌糸の進入が観察され、キノコ臭がした。このことから、これらのカラマツが枯れた原因は接種したナラタケの影響と考えられた。一方、日光、丹沢で採取した菌を接種したカラマツは、一部生長の悪いものが見られたが、木が完全に枯れたものはなかった。したがって、日光や丹沢の立ち枯れ樹木に感染しているナラタケは、*A. mellea*ほど感染力は強くないと考えられる。

表6 ナラタケを接種したカラマツの症状

接種菌	5本中枯れた本数	症状
<i>Armillaria mellea</i>	3	急激に葉が褐色になり枯れる
日光の菌	0	なし
丹沢の菌	0	なし
対照	0	なし

#### ④立ち枯れ樹木に感染しているナラタケ菌の同定

これまでに行った菌糸の培養試験、カラマツへの感染試験の結果から、日光や丹沢の立ち枯れ樹木に感染しているナラタケは、もっとも感染力の強い*A. mellea*ではないと考えられた。そこで、これらの菌がどんな種類の菌なのか、その同定を試みた。ナラタケの種の同定のためには、その子実体を形成させて胞子を採取し、その胞子から発芽した菌糸（単核菌糸）を既知の種の単核菌糸との和合性を調べる必要がある。そこで、丹沢で採取したナラタケの菌糸を滅菌したブナの幹に接種して25℃で培養後、屋外に出して温度を下げ、子実体を形成させた。その子実体は、傘、柄とも淡褐色でつばを有していたが、胞子の採取には至らなかったため、正確な同定は行えなかった。

前述のようにナラタケは数種類の生物種からなることが指摘されており、ヨーロッパでは、*A. mellea*、*A. ostoyae*、*A. cepistipes*、*A. bolealis*、*A. gallica* (*A. bulbosa*) の5種類に分類され、その地理的な分布、性質、病原性、寄生宿主などが調べられている<sup>5)</sup>。一方、日本では、ナラタケの分類に関する研究は少ないが、長沢ら<sup>6)</sup>は、本州のナラタケを単胞子分離系統を用いた交配試験によって6種類に分類した。その6種類のナラタケと今回子実体を形成させたナラタケを比較してみると、色の点では、黄色味を帯びる*A. mellea*や暗褐色となる*A. ostoyae*とは異なり、*A. lutea*や*A. cepistipes*に近かった。しかし、*A. lutea*は柄の基部が著しく太くなる点、*A. cepistipes*は湿った状態で粘性を示すという点で、今回子実体を形成させたナラタケとは異なった。したがって、子実体の形状からは、一致する菌は見られず、長沢らの分類に当てはまらない種である可能性も考えられる。

このように、丹沢や日光の立ち枯れ樹木に感染していたナラタケの種の同定には至らなかったが、少なくともこれらの菌は寒天培地上での菌糸の形状、子実体の形状、カラマツに対する感染性などから判断して、*A. mellea*ではないと断定できる。*A. mellea*は健全な樹木にも感染しうるが、

その他の菌は衰退しつつある樹木に限って感染するとされていることから<sup>5)</sup>、日光や丹沢のナラタケは何らかの原因で衰退しつつある樹木に感染し、その樹木を枯らした可能性が高いと考えられる。

#### 4. 引用文献

- 1) 服部浩之, 佐竹研一: ナラタケの発芽, 生長に及ぼす酸性物質の影響. 環境科学, 419-424 (1995)
- 2) 土壤標準分析・測定法委員会編: 土壤標準分析・測定法. p.70-71, 博友社, 東京(1986)
- 3) 土壤微生物研究会編: 土壤微生物実験法. p.15-73, 養賢堂, 東京(1992)
- 4) Anderson, J.B. and Ullrich, R.C.: Biological species of *Armillaria mellea* in North America. *Mycologia*, 71, 402-414 (1979)
- 5) Roll-Hansen, F.: The *Armillaria* species in Europe, A literature review. *Eur.J.For. Path.*, 15, 22-31 (1985)
- 6) 長沢栄史, 小松光雄, 前川二太郎: 日本産ナラタケ (*Armillariella mellea*) の分類学的再検討. 平成2年度科学研究費補助金研究成果報告書, 30pp. (1991)

[国際共同研究等の状況]

なし

[研究成果の発表状況]

(1) 誌上発表

- ①服部浩之、佐竹研一(1999): 環境の酸性化とナラタケによる森林被害、酸性環境の生態学 (佐竹研一編)、62~76、愛智出版
- ②服部浩之(1999): 酸性降下物と土壤微生物、新・土の微生物(4)、環境問題と微生物 (日本土壤微生物学会編)、91~116、博友社

(2) 口頭発表

なし

(3) 出願特許

なし

(4) 受賞等

なし

(5) 一般への公表・報道等

なし