

IV 主要な研究成果

関西地方の里山林で優占するコナラ亜属4種の繁殖開始サイズ

大住 克博（森林生態研究グループ）

・石井 敦子（元・滋賀県立大学）・伊東 宏樹（多摩森林科学園）

1. はじめに

樹木が成長し繁殖を開始するサイズは、それぞれの種の生活史戦略と深く関わっていて、近縁な樹種間でさえ異なることが指摘されている。コナラ亜属は里山林の優占樹種であり、西日本では複数の種が共存している。里山林におけるそれぞれの種のニッチを推定するために必要な基礎情報を得る目的で、半自然林で同所的に分布するコナラ亜属樹種4種（クヌギ節に属するアベマキとクヌギ、およびコナラ節に属するコナラとナラガシワ）の野生個体群を対象に、それぞれの種の繁殖早熟性の発現パターンの違いを調べた。

2. 調査方法

調査は、滋賀県大津市（旧志賀町）の、比良山地の山麓にあたる標高約150～300mの範囲で行った。調査地一帯はいわゆる里山林であり、現在の植生としては、林冠層をアベマキ、コナラ、アカマツなどが優占している。この地域に29箇所の調査区を設定し、上記のコナラ亜属4樹種について、幹ごとの雄花序と雌花序の着花の多少を、連続する3年間観察した。調査対象は調査区内の樹高が胸高に達した幹とし、それらについて、樹種、胸高直径、その幹が実生起源であるか萌芽起源であるかを記録した。雄花序および雌花序の着花の多少は、毎年4月下旬に目視によって、無着花から樹冠全面の着花までの6段階のランクとして判定した。それらの結果を累積ロジットモデルにより解析し、幹のサイズや起源、観測年が着花ランクに与える影響を、樹種間で比較した。

3. 結果と考察

着花ランクと幹のサイズや起源、観測年などの要因の間で示されたパターンは、樹種間で異なっていた。4樹種の雄花序と雌花序それぞれについて、すべてのケースで胸高直径は着花ランクと強い関係を持ち、胸高直径が大きくなるに連れて、着花ランクも上昇していた。アベマキやクヌギでは、雄花序、雌花序ともに、胸高直径5cm以下の幹にはほとんど着花せず、繁殖開始サイズの存在が認められた。一方コナラやナラガシワでは、高さが胸高にようやく達したばかりの細い幹においても着花するものが多く見られ、繁殖開始サイズは確認できなかった。このことにより、クヌギ節に属する樹種は、コナラ節に属する樹種よりも、大きな胸高直径に達した後に着花を開始する傾向を持つと考えられた。

実生起源か萌芽起源かという違いは、コナラ、ナラガシワの雌雄双方の花序およびアベマキの雌花序において、着花ランクに影響を与えていて、胸高直径サイズが同じクラスでは、実生起源の幹よりも萌芽起源の幹の方が着花が多かった。アベマキの雌雄双方の花序においては、観測年の違いも着花ランクに影響を与えていたが、その影響は、胸高直径が与える影響に比べて小さかった。

それぞれの樹種において、雄花序と雌花序の着花パターンは、概ね類似していた。クヌギの実生を除き、樹種や観測年、幹の起源の違いを問わず全てのケースにおいて、同一幹に着花する雌雄双方の花序の着花ランクの間に、有意な正の連関が存在し、雄花序の着花ランクの高い幹では、雌花序の着花ランクも高くなっていた。

このように、雄花序あるいは雌花序の着花パターンは、コナラ亜属の4種の近縁種間で共通ではなかった。それらは主に、幹のサイズや幹が萌芽か実生起源かという要因により影響されていたが、その影響の強さや現れ方は、種によって異なっていた。それらの諸要因と着花パターンの関係は、3年間の観測年を通して明確な年変動を示さず、コナラ亜属の4種は、種毎に生得的で安定した着花パターンを持つことが推察された。これらの着花パターンは、クヌギ節とコナラ節という、コナラ亜属の中の二つの系統間で異なっている可能性が考えられる。今回の結果の中で、クヌギ節に属するアベマキとクヌギは明瞭な繁殖開始サイズを持つが、他方、コナラ節に属するコナラとナラガシワの二種は繁殖開始サイズが確認できなかったこと、あるいは、コナラ節のコナラとナラガシワでは、萌芽起源の幹がより小さいサイズで高い着花ランクに達する傾向が認められたことなどが、その証拠である。コナラ節の2種、特にそれらの萌芽起源の幹が示した強い繁殖早熟性は、薪炭林管理のような、親木の死亡リスクが高い環境や攪乱体制に、適応的であることが考えられる。

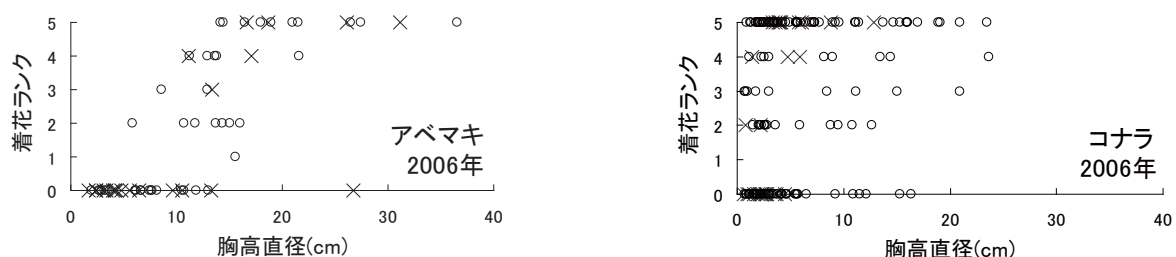


図 幹のサイズと雄花序の着花ランクの関係

着花ランクは、0；無着花、1；少数の着花あり、2；樹冠に部分的に着花、3；樹冠の半分程度に着花、4；樹冠に部分的に着花なし、5；樹冠全面に着花

○；萌芽起源の幹、×；実生起源の幹

カメラ埋設型ミニリゾトロンによる落葉広葉樹二次林の細根動態の解析

溝口 岳男（森林環境研究グループ）

1. はじめに

森林の炭素固定能を高めるためには、森林における炭素動態をより精緻に把握する必要がある。炭素動態から見た樹木のバイオマス生産や呼吸反応については、地上部に関してはこれまで多くの研究事例が蓄積されてきているが、非破壊的な継続調査が困難な根系については調査例が極めて限られているのが現状である。中でも呼吸活性が高く、発生・消長のサイクルが短い細根についての知見が求められている。本研究では、土壌攪乱の影響が小さく、継続して細根の消長を観察出来るカメラ埋設型のミニリゾトロンを用いて、根系が細密で調査事例の極めて乏しい広葉樹の細根の消長をコナラを対象として観察した。その画像を解析することにより、コナラ細根の発生・消長の季節性を明らかにするとともに、細根の回転率を試算した。

2. 試験地と手法

本研究は、京都府木津川市郊外の山城試験地の尾根部にあるコナラを主体とする広葉樹二次林で行った。斜面の斜度は 12 ～ 35 度で、コナラ以外にリョウブ、ヒサカキ、ソヨゴ、ネジキ、コバノミツバツツジなどを交える。土壌は風化花崗岩を母材とする褐色森林土で、有効土壌層は 50 cm 未満と薄い。2006 年 12 月に、胸高直径 20 cm 以上のコナラを 4 本設定し、根株部分から 70 ～ 100 cm 離れた部分に観測面が斜面上部を向くよう、ミニリゾトロン（エルテクノ社 MOLE）を 2 基ずつ計 8 台埋設した。観察面では 4 cm 四方の方形の画像を縦に 2 つ撮影でき、それぞれ 4 ～ 8 cm、10 ～ 14 cm の深さの画像にあたる。埋設後、界面の状態が安定するまで 1 年間静置し、獣害で測定不能になった 3 基を除く 5 基のミニリゾトロンから、2008 年 1 月から毎月 1 回の頻度で、観察面の根系の画像を採取した。得られた画像をもとに手動で直径 0.5 mm 未満の細根をトレースし、各観察期間に発生・消失した細根の長さを積算した。また、根端の存続期間を元に回転率を求めた。

3. 結果と考察

細根の発生は観察面の上下を問わず夏に明瞭なピークを持ち、10 月にも発生の増加が見られた（図）。また、冬期にも発生が完全に停止することはなかった。細根の消失は発生ほどの明瞭な季節性を示さなかった。

観察面全体のデータを用いて直径 0.5 mm 未満の細根を対象に計算すると、年間の細根新規伸長量は $25.3 \text{ mm cm}^{-2} \text{ year}^{-1}$ 、年間の細根消失量は $25.6 \text{ mm cm}^{-2} \text{ year}^{-1}$ とほぼ均衡していた。山城で実測された直径 0.5 mm 未満のコナラ細根の比根長（ 60.6 m g^{-1} ）をもとに根長を重量に換算し、単位観察面積辺りの年間細根バイオマス生産量を計算すると $4.2 \text{ g m}^{-2} \text{ year}^{-1}$ と計算された。しかし、ある土壌層中の年間細根バイオマス生産量の試算へとスケールアップするには、換算手法を検討する必要がある。

一方で、直径 0.5mm 未満のコナラ細根の寿命は、その細根の発生時期、土壌深、菌根化の有無によって若干異なっていたが、概ね 2.3 ～ 3.2 ヶ月の範囲であり、3 ～ 4 回 year^{-1} の回転率を示していた。

当手法を用いることで、コナラ細根の発生・消長パターンの把握と寿命に関する情報が得られることが明らかになったが、細根長からバイオマスへの変換に際しては、他の複数の手法との比較による確認と補正が必要であると思われる。

本研究で用いたミニリゾトロンは完全に観察面が固定されるため、アクリルパイプと CCD カメラもしくはスキャナーとの組み合わせによる在来のミニリゾトロンに比べ、比較観察が容易である。ただし、多点観察のためにはその点数分機器を要するので、ローコスト化と、画像の自動採取、非接触型のデータ回収等を考慮して改良を加えていく必要がある。

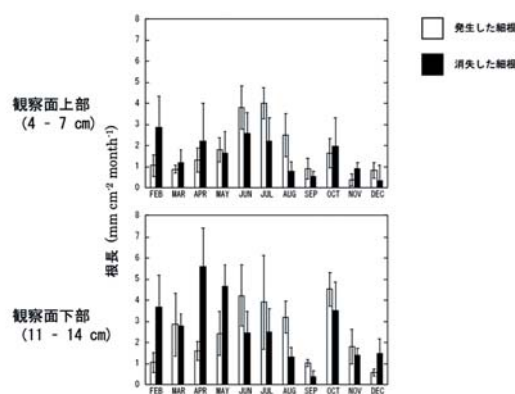


図 一か月間に発生、消失した細根の長さ
(観察面の単位面積あたり。5 面の平均値 ± SE)

ケケンボナシてんぐ巣病ファイトプラズマ 16S rDNA 塩基配列の BLAST 解析

宮下 俊一郎（生物多様性研究グループ）

1. はじめに

ケケンボナシ (*Hovenia tomentella* (Makino) Nakai ex Y.Kimura) は本州、四国に分布するクロウメモドキ科の落葉広葉樹である。1990 年代に黄化・てんぐ巣症状を示す病気（ケケンボナシてんぐ巣病）が見つかり、罹病葉の電子顕微鏡観察により病原がファイトプラズマであることが判明した。ファイトプラズマは多型性のため形態的識別ができず、分離培養も不可能であるため、長年にわたりその分類についてはほとんど手付かずであった。近年になって分子生物学的手法と分子系統解析の発達により、ファイトプラズマの分類体系が確立されつつある。本研究は、ケケンボナシてんぐ巣病ファイトプラズマの分類学的位置を明らかにすることを目的に、16S rDNA 塩基配列を用いた BLAST 解析を行った。

2. 材料と方法

罹病葉を乳鉢中で磨砕し、全植物体 DNA を抽出した。全植物体 DNA に対してファイトプラズマの 16S rDNA に特異的なプライマーセットを用いて PCR を行い、得られた PCR 産物の塩基配列を決定した。本塩基配列に対して DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/Welcome-j.html>) のオンラインサービス上で BLAST 解析を行うことにより相同性の高い配列を検索した。

3. 結果及び考察

PCR を行った結果、約 1.4 kbp の PCR 産物が検出された。シーケンシングにより、PCR 産物のほぼ全域にあたる 1367bp の塩基配列を決定した。配列は DDBJ に登録した (Accession No. AB361249)。

本配列を用いて行った BLAST 解析により検索された配列データの上位 10 データ中、6 データがケケンボナシと同じクロウメモドキ科に属するナツメ (*Ziziphus jujuba* Mill.) てんぐ巣病ファイトプラズマ (Jujube witches' broom phytoplasma) であった。このうちの 2 つのデータにおいて相同性が 100% であった。

さらに、ナツメてんぐ巣病ファイトプラズマとケケンボナシとの関係については、媒介者であるヨコバイ科の昆虫ヒシモンヨコバイ (*Hishimonus sellatus*) を用いた接種試験が楠木らによって行われている (Kusunoki et al. 2002)。この論文では、ナツメてんぐ巣病ファイトプラズマを獲得吸汁させたヒシモンヨコバイ接種によりケケンボナシにてんぐ巣病徴が再現され、その罹病葉から増幅されたファイトプラズマの 16S rDNA の RFLP パターンがナツメてんぐ巣病ファイトプラズマと一致することが報告されている。このことは、ナツメてんぐ巣病ファイトプラズマがヒシモンヨコバイを介してケケンボナシに感染・発病可能であることを示している。これらの結果を合せて考えると、両者は同一の病原体であるものと考えられる。

引用文献

Kusunoki, M., Shiomi, T., Kobayashi, M., Okudaira, T., Ohashi, A. and Nohira, T. (2002) A Leafhopper (*Hishimonus sellatus*) transmits phylogenetically distant phytoplasmas: Rhus yellows and hovenia witches' broom phytoplasma. J. Gen. Plant Pathol. 68: 147-154.

* 本研究は 2008 年発行の森林応用研究に掲載されました。

宮下俊一郎・楠木学：ケケンボナシてんぐ巣病ファイトプラズマの 16S rDNA 塩基配列解析. 森林応用研究 17:29-32, 2008

サクラ類幼果菌核病およびてんぐ巣病のサクラ系統による罹病傾向

長谷川 絵里（生物被害研究グループ）・秋庭 満輝・佐橋 憲生・窪野 高德（森林微生物研究領域）
・太田 祐子（企画部／森林微生物研究領域）・勝木 俊雄（森林バイオ研究センター／森林植生研究領域）
・石原 誠（北海道支所）・高畑 義啓（九州支所）・岩本 宏二郎（多摩森林科学園）

1. はじめに

日本のサクラ類には多くの栽培品種がある。これらサクラ類の系統間で、樹勢や美観を損ねる重要な病害であるサクラ類幼果菌核病およびサクラ類てんぐ巣病の罹患程度に差異があるかを知るため、調査を行った。

2. 材料と方法

幼果菌核病の調査は、森林総合研究所・多摩森林科学園（東京都八王子市）内のサクラ類について、2009 年 4 月に行った。まずサクラ類の代表として 26 栽培ラインを選び、各栽培ライン 2～8 本について、サクラ 1 本当たり約 600 枚の葉を選び、幼果菌核病の典型的な罹病葉と健全葉の数を数えた。栽培ラインとは、ここでは多摩森林科学園が同じ親木から採取した穂木を接ぎ木で増殖した苗からなる一群を指し、同一栽培ラインは同一クローンである。調査葉は樹の各方向の枝から均等に選んだ。次に、サクラ類 371 栽培ライン各 1 本について、樹冠に占める罹病葉の割合を 5 段階で評価した。てんぐ巣病調査は、数年間病枝の切除をしていないこどもの国（神奈川県横浜市）のサクラ類 438 本について、2009 年 3～4 月に行った。各サクラ調査木について、形態や開花時期等から種・栽培品種の同定を行うと共に、てんぐ巣病枝の有無を記録した。

3. 結果と考察

26 栽培ラインの調査中の幼果菌核病罹病葉の比率は 0 から 100% までばらついた。罹病葉の比率が 80% を超えた栽培ラインは‘椿寒桜’、‘古里桜’、‘東海桜’で、いずれもカンヒザクラとカラミザクラが親と考えられている種間雑種の栽培品種である。これらに次いで罹病葉の比率の高い栽培ラインはカンヒザクラ、マメザクラおよびオオシマザクラを親とする栽培品種（‘河津桜’、‘十月桜’、‘冬桜’、‘寒桜’）であった。371 栽培ラインの幼果菌核病調査の結果をサクラのそれぞれの親と考えられる種で整理する（雑種は両親で重複カウントする）と、カラミザクラ・カンヒザクラ・マメザクラ・エドヒガンを親とする栽培ラインで激しく発生する傾向が認められた（図）。カラミザクラ・カンヒザクラは暖地を適地とする種であり、これらにとっては八王子が適地ではない可能性がある。マメザクラ・エドヒガン・ヤマザクラ・オオシマザクラを親とするサクラでは、栽培ラインにより罹病程度が違うことが明らかになった。

てんぐ巣病調査木の同定の結果、28 栽培品種を含む 5 種のサクラが確認された。これらのうち、‘枝垂桜’以外の栽培品種についてはそれぞれ開花時期や形態に栽培品種内の差はなく、おそらくそれぞれの栽培品種毎に同一クローンであると考えられた。‘枝垂桜’および自生を含む栽培品種でないサクラは開花時期や形態に差が観察され、複数クローンを含んでいると考えられた。サクラの種類別のてんぐ巣病罹病率は、エドヒガンとオオシマザクラの種間雑種とされる‘染井吉野’が 40 本中 31 本（78%）で著しく高かった。同時に‘手弱女’、‘一葉’、‘関山’、‘松月’などのオオシマザクラの栽培品種やヤマザクラも相当数罹病することが明らかとなった。‘染井吉野’以外について、幼果菌核病と同様に親と考えられる種で整理したところ、オオシマザクラ 13 本中 0 本（0%）、‘染井吉野’を除くオオシマザクラの種間雑種・栽培品種 255 本中 19 本（7.5%）、エドヒガンおよび‘染井吉野’を除くエドヒガンの種間雑種・栽培品種 75 本中 1 本（1.3%）、カンヒザクラおよびカンヒザクラの種間雑種・栽培品種 31 本中 0 本（0%）、ヤマザクラ 31 本中 3 本（9.7%）、ヤマザクラの種間雑種・栽培品種 22 本中 0 本（0%）が罹病していた。オオシマザクラおよびヤマザクラには、てんぐ巣病に罹病しやすい性質を持つ系統があるのではないかと考えられた。

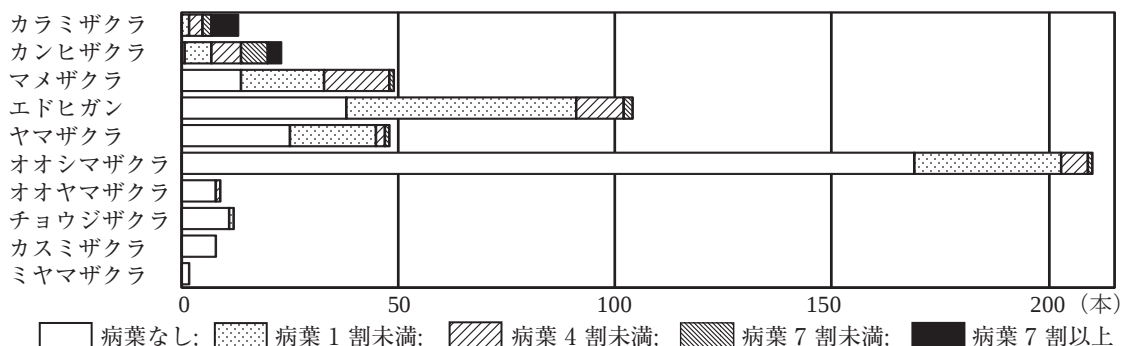


図 調査したサクラ 371 栽培ラインの親と考えられる種と幼果菌核病罹病程度

カシノナガキクイムシのリボソーム DNA に見られた地域変異

濱口 京子 (生物被害研究グループ)

1. はじめに

現在、九州から本州にかけての広い地域でナラ・シイ・カシ類が大量に枯れる「ナラ枯れ」が生じ、大きな問題となっている。ナラ枯れは、病原菌 (*Raffaelea quercivora*) がカシノナガキクイムシ (*Platypus quercivorus*) という甲虫 (以下、カシナガ) によって媒介されることによって生じる。各地で被害を起こしているカシナガが遺伝的に均一な集団か、それとも何らかの地域間差があるのかを把握しておくことは、病気の拡大経路を検証するために大変重要である。しかし、これまでにカシナガの体サイズに地域差が見られることが報告されているものの (伊藤ら、2000)、遺伝的な地域間差については未検証であった。そこで、本研究ではリボソーム DNA の部分塩基配列に基づいたカシナガの遺伝的地域変異解析を行った。

2. 方法

石垣島から本州東北地域までの全国 32 地点から収集したカシナガを材料とした。これらのうち 25 地点はナラ枯れ発生地域、7 地点はナラ枯れが認められなかった地域である。サンプル収集にあたっては、各府県担当者をはじめとする多くの方々にご協力をいただいた。収集したカシナガ各個体から DNA を抽出し、Kim et al. (2000) のプライマーを用いて 28S 領域の D1-D2 領域を増幅し、塩基配列を決定した。得られた塩基配列について分子系統解析を行った。

3. 結果と考察

国内のカシナガには 7 つの遺伝的タイプが見られ、それらは 2 つの大きなグループ (タイプ 1、2 → グループ A、タイプ 3、4a、4b、4c、4d → グループ B) にわかれることが明らかになった (図 1)。グループ A と B の遺伝的隔たりは別種に相当するほど大きく、現在分類学的再検討が行われているため、これまでカシノナガキクイムシとされてきた虫は 2 種にわかれる可能性がある。

興味深いことに、各遺伝的タイプは異なる地域に分布する傾向にあることが明らかになった (ただし、タイプ 4a、4b、4c、4d は混在した) (図 2)。それぞれの分布域とナラ枯れとの関係を見てみると、グループ A に属するタイプ 1 とグループ B に属するタイプ 4a および 4d がナラ枯れ被害地から採取されていた (図 2 中の●で示した採集ポイント)。このことから、被害発生には特定の遺伝的タイプのみが関わっているのではなく、別種ほどに隔たるグループに属する複数の遺伝的タイプがそれぞれの地域で被害をひきおこしていることが明らかとなった。今後は、ナラ枯れの直接的原因である *R. quercivora* とカシナガの遺伝的タイプとの相互関係を明らかにするとともに、なぜ別種ほどに異なるグループの両方がほぼ同時期に被害を起こすようになったのかを解明していく必要があるだろう。

なお、タイプ 1 は九州～本州、タイプ 2 は中琉球、タイプ 3 は石垣島、タイプ 4a、4b、4c、4d は九州南部と紀伊半島南端に分布するなど、その分布傾向はかなり特徴的である。

四国など未解析地域や海外のサンプルも加えた系統地理的解析を進めることにより、各タイプが日本に定着するようになった歴史的経緯を推測することができるだろう。

引用文献

- Ito, S., Y. Sugiura, Y. Matsuda and H. Kajimura (2002) *Chubu Shinrin Kenkyu* 50: 87-88.
 Hamaguchi K, Goto H (2010) *Appl Entomol Zool* 45: 319-328.
 Kim, C.-G., H.-Z. Zhou, Y. Imura, O. Tominaga, Z.-H. Su and S. Osawa (2000) *Mol Biol Evol* 17: 137-145.

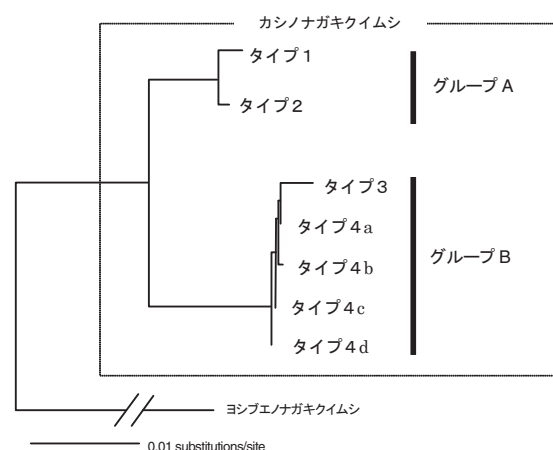


図 1 28S リボソーム部分配列にもとづくカシノナガキクイムシの近隣結合樹 (Hamaguchi & Goto 2010 を改変)

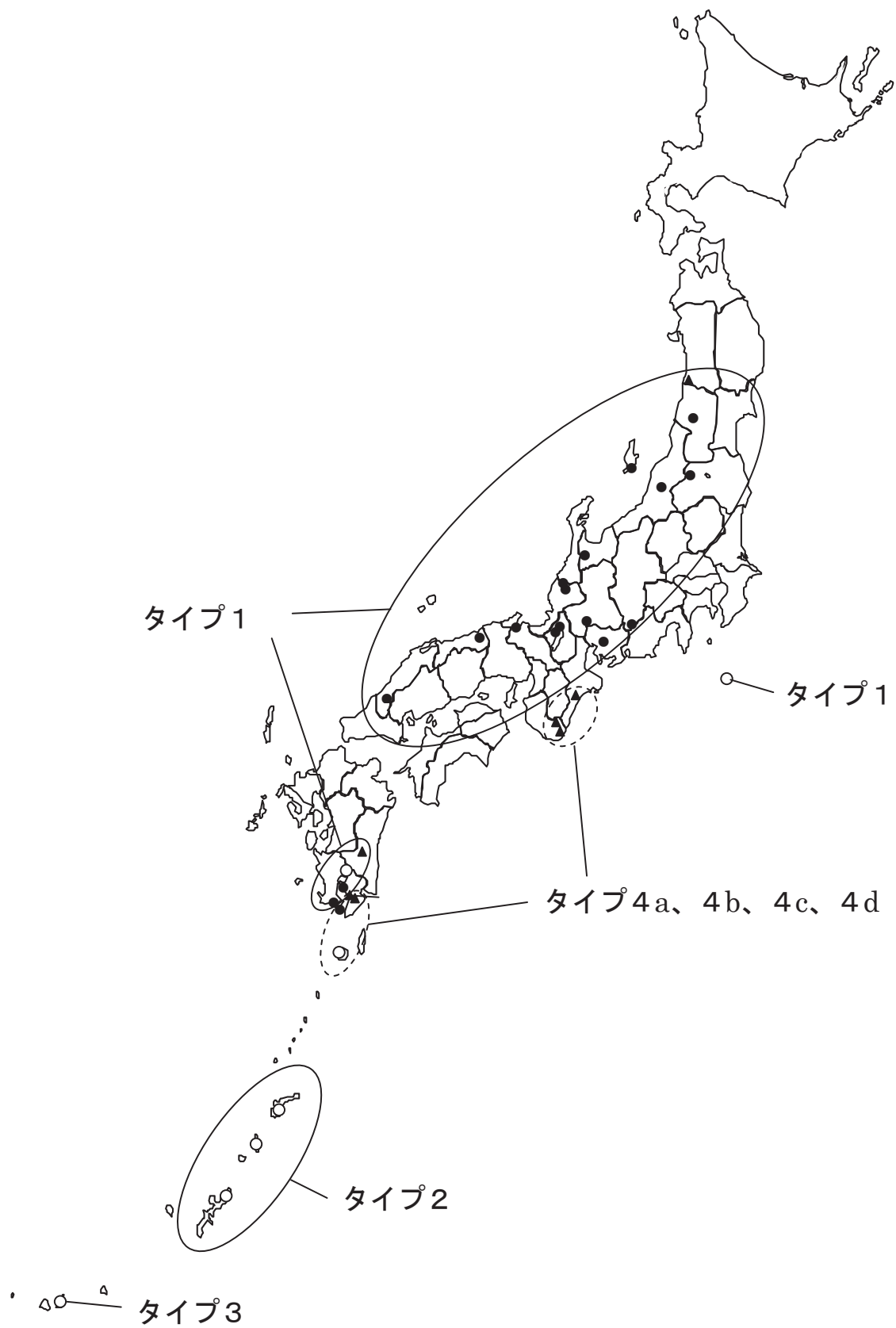


図 2 カシノナガキイムシに見られた 7 つの遺伝的タイプの分布様式 (Hamaguchi & Goto 2010 を改変)

●は集団枯損の見られた採集ポイント、▲は数本の枯損木が見られた採集ポイント、○は枯れが認められなかった採集ポイントを示す。