トドマツ材とシラカンバ材に対する北海道産ナラタケ5種の腐朽能力および組織学的腐朽特性

車　柱榮*　玉井　裕**　宮本　敏澄*　五十嵐恒夫*

Histological Characteristics and Decay Ability to Wood of *Betula platyphylla* SUKATCHEV var. *japonica* (MIQ.) HARA and *Abies sachalinensis* (FR. SCHM.) MAST. of 5 Hokkaido *Armillaria* in Japan

by

Joo Young CHA*, Yutaka TAMAI**, Toshizumi MIYAMOTO* and Tsuneo IGARASHI*

要　旨

トドマツ木片とシラカンバ木片に対する北海道産ナラタケ5種の生物学的種の腐朽能力と組織学的腐朽特性について調べた。シラカンバ材の重量において2カ月と4カ月後ともにツバナラタケ，コバリナラタケとホテイナラタケの方がヤワナラタケとヒトリナラタケより高い減少率を示した。トドマツ材の2カ月後においてはナラタケの種による差はほとんど示されなかったが，4カ月後にはシラカンバと同じくツバナラタケ，コバリナラタケとホテイナラタケの方がヤワナラタケとヒトリナラタケより高かった。またすべての種において2カ月と4カ月後ともにシラカンバの方がトドマツより高かった。ナラタケを接種したすべての木片の組織内で菌糸の侵入が認められた。シラカンバ材内では導管と階段せん孔に菌糸が多く存在し，壁孔にも菌糸の侵入が認められた。トドマツでは仮導管と放射組織で多くの菌糸があり，また，シ

1996年3月29日受理．Received March 29, 1996

*北海道大学農学部森林科学科造林学講座
Laboratory of Silviculture, Department of Forest Science, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060

**森林総合研究所九州支所保護部特用林産研究室
Laboratory of Forest by-products, Kyushu Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute, Kumamoto 860

現在：北海道大学農学部森林科学科森林化学講座
Laboratory of Forest Chemistry, Department of Forest Science, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060

ラカンバと同様に壁孔に菌糸の侵入が確認された。

キーワード：ナラタケ，シラカンバ，トドマツ，腐朽能力

1．は　じ　め　に

ナラタケ｛*Armillaria mellea* (VAHL: FR.) KUMMER｝は森の中で樹木の根腐病原菌であり，オニノヤガラやツチアケビなどのラン科植物との共生菌でもある。また，子実体は北海道でボリボリと呼ばれる優れた食用菌であり，さらにリグニンの分解能力がある白色腐朽菌であるなどの様々な特徴を持っていることがよく知られている（CHA and IGARASHI 1995b; HARTIG 1873; 1874; KUSANO 1911; SHAW 1981; 1989; TERASHITA and CHUMAN 1987）。

最近世界的に，1種とされてきたナラタケには生殖的に隔離されている不和合性グループすなわち，複数の生物学的種の存在が明らかにされつつある（KORHONEN 1978; ANDERSON and ULLRICH 1979）。日本においても2新種と1新亜種を含む，少なくても8種の生物学的種の存在が明らかになった（CHA and IGARASHI 1995a; CHA et al. 1992; 1994; NAGASAWA et al. 1991）。また，ナラタケの生物学的種は各種ごとに子実体の形態的特徴及び生理・生態的特徴が異なっていることが明らかにされつつある（BÉRUBÉ and DESSUREAULT 1988; 1989; CHA 1995; ROLL-HANSEN 1985）。ナラタケの木材腐朽能力はリグニン分解能力に密接な関係があると考えられ，筆者ら（1994）は北海道産ナラタケ5種の生物学的種を対象としグアヤコールを含む木粉寒天培地での着色反応によってリグニン分解能力を調べた。その結果，全ての種において着色反応が現れること，また各種ごとによって着色反応に様々な特徴が現れることから，ナラタケの生物学的種ごとの木材腐朽能力には様々な特徴があることが示唆された。

本研究では2新種を含む5種のナラタケの生物学的種のトドマツ材とシラカンバ材に対する腐朽能力及び組織学的腐朽特性について報告する。

2．材料および方法

2．1　供試菌株・材料

北海道の森林を対象として子実体を採取し，交配試験によって同定した2新種を含む5種の生物学的種の複相菌株のなかで，それぞれの代表的なもの一系統を供試菌株とした（Table 1）。供試材料はトドマツ材とシラカンバ材から木片（2×2×2 cm）をつくり，80℃で92時間乾燥し重量を計った後本研究に用いた。

2．2　腐朽試験

150 g の石英砂を入れた 300 ml の三角フラスコに 50 ml の MDP 培地（3% malt extract＋

Table 1. Origin of diploid isolates of the 5 biological species of Hokkaido *Armillaria*

Biological species	No. of isolates	Host trees
A. ostoyae (Tsuba-naratake)	HUA9112	*B. ermanii*
A. gallica (Yawa-naratake)	HUA9102	*F. mandshurica* var. *japonica*
A. jezoensis (Kobari-naratake)	HUA9116	*U. japonica*
A. sinapina (Hotei-naratake)	HUA9115	*S. sachalinensis*
A. singula (Hitori-naratake)	HUA9109	*A. sachalinensis*

2% dextrose+0.5% bacto-peptone）を加え，高圧滅菌（121℃で1時間）した。接種源をコルクボーラー（直径6 mm）を用いて抜きとり，各供試フラスコに接種し25℃で4週間培養した。培養した各フラスコに121℃で1時間高圧滅菌した木片を3個ずつ入れ25℃の恒温器で培養した。結果の調査は接種2カ月と4カ月後に乾重量を計り，重量減少率を求めた。

2．3　走査電子顕微鏡による組織内の菌糸の観察

4カ月後のものについては走査電子顕微鏡（SEM）を用い（HIRAKAWA 1984）組織内での菌糸の侵入の有無についてしらべた。

3．結果および考察

3．1　木材腐朽試験

供試菌別のトドマツとシラカンバの木片の処理2カ月と4カ月後の重量減少率はTable 2に示した。各生物学的種におけるシラカンバの重量減少率は2カ月と4カ月後にそれぞれツバナラタケ｛*Armillaria ostoyae* (ROMAGNESI) HERINK｝では14.07%と23.08%，ヤワナラタケ（*A. gallica* MARXMÜLLER and ROMAGNENSI）では6.28%と9.15%，コバリナラタケ（*A. jezoensis* CHA and IGARASHI）では11.27%と15.20%，ホテイナラタケ（*A. sinapina* BÉRUBÉ and DESSUREAULT）では10.16%と25.60%，ヒトリナラタケ（*A. singula* CHA and IGARASHI）では8.23%と12.39%であった。また，トドマツにおいてはツバナラタケでは2.23%と9.19%，ヤワナラタケでは1.67%と7.83%，コバリナラタケでは1.96%と11.00%，ホテイナラタケでは0.73%と13.92%，ヒトリナラタケでは2.20%と9.20%であった。

シラカンバにおいて2カ月と4カ月後ともにツバナラタケ，コバリナラタケとホテイナラタケの方がヤワナラタケとヒトリナラタケより高い減少率を示した。トドマツの2カ月後においてはナラタケの種による差はほどんと示されなかったが，4カ月後にはシラカンバと同じくツバナラタケ，コバリナラタケとホテイナラタケの方がヤワナラタケとヒトリナラタケより高かった。またすべての種において2カ月と4カ月後ともにシラカンバの方がトドマツより高い重量減少率を示した。

3．2　木材腐朽能力と生態的特徴

ナラタケは生物学的種ごとに樹木に対する病原性や腐朽特性が異なっていることが知られていた（GREGORY et al. 1991; GARRAWAY et al. 1991）。したがって生物学的種ごとに森林のなかでの生活パターンにも様々な特徴があると考えられる。本研究の結果で比較的高い腐朽率を示しているツバナラタケ，コバリナラタケとホテイナラタケは枯れた樹木の形成層付近に菌糸束を多く形成し，子実体は枯れた樹幹，腐れた根株及根の上に形成する特徴がある。また，他種よりやや弱い腐朽能力を持っているヤワナラタケとヒトリナラタケの場合は他種と同様に枯れた樹木の形成層付近に菌糸束の形成が見られるが，森林土壌中にもたくさんの菌糸束が存在し，子実体はおもに土壌上で発生する特徴がある（CHA 1995）。

ナラタケ菌は他の木材腐朽菌より成長が遅いという培養上の特徴があり，本研究で得た結果はナラタケが持っている腐朽能力の初期段階に当たるものと考えられる。ツバナラタケ，コバリナラタケとホテイナラタケは森林の中で樹幹及び根株などの木質を栄養源として，またヤワナラタケとヒトリナラタケは樹幹や根株だけではなく林床の落ち枝などのリターを中心に生活すると考えられる。特にツバナラタケ，コバリナラタケとホテイナラタケでは接種2カ月後にも比較的高い腐朽率があらわれることから木材に含まれているフェノール性成分やヘミセルロースなどの分解能力がヤワナラタケとヒトリナラタケより強いと考えられる。

したがって樹木の根腐病原菌としてよく知られているツバナラタケ（ROLL-HANSEN 1985; SHAW and ROTH 1974）は弱った木だけではなく健全な木の組織を侵入することができると考えられる。

Table 2. Comparison of percentage of the weight loss of wood blocks for 5 biological species after 2 and 4 months

Biological species	Weight loss (%)*			
	Bp		As	
	2 months	4 months	2 months	4 months
A. ostoyae	14.07	23.08	2.23	9.19
A. gallica	6.28	9.15	1.67	7.83
A. jezoensis	11.27	15.20	1.96	11.00
A. sinapina	10.16	25.60	0.73	13.92
A. singula	8.23	12.39	2.20	9.20

*Abbreviation; Bp, *B. platyphylla* var. *japonica*; Ap, *A. sachalinensis*

3．3　腐朽材内の菌糸の観察

走査電子顕微鏡を用いてコントロールのシラカンバ材では導管，階段せん孔と壁孔を，またトドマツ材では仮導管，壁孔と放射組織を主に観察した（Photo 1a, b）。シラカンバ材の導管，階段せん孔と壁孔などで，またトドマツ材の仮導管，壁孔と放射組織などで菌糸の侵入が

普通的にみられた代表的な例を写真で示した。ツバナラタケにより腐朽されたシラカンバ材の階段せん孔で，またトドマツ材の壁孔で菌糸の侵入が認められた (Photo 2a, b)。ヤワナラタケにより腐朽されたシラカンバ材の導管で，またトドマツ材の放射組織で菌糸の侵入が認められた (Photo 3a, b)。コバリナラタケにより腐朽されたシラカンバ材の壁孔で，またトドマツ材の放射組織で菌糸の侵入が認められた (Photo 4a, b)。ホテイナラタケにより腐朽されたシラカンバ材の階段せん孔で，またトドマツ材の放射組織で菌糸の侵入が認められた (Photo 5a, b)。ヒトリナラタケにより腐朽されたシラカンバ材の壁孔で，またトドマツ材の仮導管で菌糸の侵入が認められた (Photo 6a, b)。

HUBERT (1924) はマツノカタワタケによって腐朽がかなり進んだストローブマツ腐朽材の内部組織に菌糸が蔓延し細胞壁まで菌糸による破壊を認めるとともに，腐朽初期には細胞壁の破壊は見られないこと，また腐朽材内での菌糸は壁孔などの穴を通じて広がることを報告した。

本研究ではシラカンバとトドマツの両方とも細胞壁は壊れていないことから，腐朽の初期段階であることが明らかにされた。ナラタケ菌糸は木材の導管，仮導管，階段せん孔を通じて上下に広がり，壁孔や放射組織を通じて材内部の横に広がっていると考えられる。

4. おわりに

世界的にナラタケの生物学的種としての研究がはじまったのは1970年代後半であり，現在まで約30数種が報告されてきた。その中で，外国産主に北アメリカおよびヨーロッパ産の種に対しては子実体の形態的特徴，生態的特徴および生理学的特徴などが明らかにされつつある。日本においては2新種と1新亜種を含む少なくとも8種の生物学的種の存在が明らかにされてきが，それぞれ種ごとの生理・生態学的特徴はまだ明らかにされていない。

本研究では北海道産2新種を含む5種の生物学的種のトドマツ材とシラカンバ材にたいしての腐朽能力および腐朽材の組織学的観察を行った結果，シラカンバ材において2カ月と4カ月後ともにツバナラタケ，コバリナラタケとホテイナラタケの方がヤワナラタケとヒトリナラタケより高い重量減少率を示した。トドマツ材の2カ月後においてはナラタケの種による差はほどんと示されなかったが，4カ月後にはシラカンバと同じくツバナラタケ，コバリナラタケとホテイナラタケの方がヤワナラタケとヒトリナラタケより高かった。また，供試菌を接種した全ての腐朽材内から菌糸の侵入がみとめられた。ナラタケ属菌は森林中で樹木の根腐病原菌として良く知られてきたが，落ち枝や倒木などの木材分解者としても重要な菌類の一つである。本研究の結果からツバナラタケ，コバリナラタケとホテイナラタケの方がシラカンバ材およびトドマツ材を良く分解するものと考えられる。しかし，本研究の結果は2カ月と4カ月後の結果であり，腐朽材の組織学的観察の結果からも腐朽初期段階であることが明らかにされた。したがって，森林中での木材分解者としてのナラタケの生物学的種を明らかにするためには，少なくとも4カ月以上の長期間の腐朽試験を行わなければならないと考えられる。また，木材の

成分すなわち，セルロース，ヘーミセルロースとリグニンなどに対するナラタケ属菌の分解能力をより定量的に評価する方法の検討が必要と思われる。

引 用 文 献

ANDERSON, J. B. and ULLRICH, R. C. 1979: Biological species of *Armillaria mellea* in North America. Mycologia, **71**, 402-414.

BÉRUBÉ, J. A. and DESSUREAULT, M. 1988: Morphological characteristics of *Armillaria ostoyae* and *Armillaria sinapina* sp. nov. Can. J. Bot., **66**, 2027-2034.

BÉRUBÉ, J. A. and DESSUREAULT, M. 1989: Morphological studies of the *Armillaria mellea* complex: two new species, *A. gemina* and *A. calvescens*. Mycologia, **81**, 216-225.

CHA, J. Y. 1995: Taxonomy and ecology of *Armillaria mellea* complex in Hokkaido. PhD Diss., Hokkaido Univ. 200 p.

CHA, J. Y. and IGARASHI T. 1995a: A note on *Armillaria mellea* subsp. *nipponica* subsp. nov. in Japan. Mycoscience, **36**, 143-146.

CHA, J. Y. and IGARASHI T. 1995b: *Armillaria* species associated with *Gastrodia elata* in Japan. Eur. J. For. Path., **25**, 319-326.

CHA, J. Y., SUNG, J. M. and IGARASHI, T. 1992: Biological species and morphological characteristics of *Armillaria mellea* complex in Hokkaido: *A. ostoyae* and *A. bulbosa*. Res. Bull. Exp. For. Hokkaido Univ., **49**, 185-194.

CHA, J. Y., SUNG, J. M. and IGARASHI, T. 1994: Biological species and morphological characteristics of *Armillaria mellea* complex in Hokkaido: *A. sinapina* and two new species, *A. jezoensis* and *A. singula*. Mycoscience, **35**, 39-47.

車柱榮・玉井裕・五十嵐恒夫（1994）：ナラタケ類の生物学的種5種の木材腐朽能力について。日林北支論 **42**, 146-148.

GARRAWAY, M. O., HUTTERMAN, A. and WARGO, P. M. 1991: Ontogeny and Physiology. ed by SHAW, C. G. III and KILE, G. A. Agriculture Handbook no. 691, Washington DC: USDA. Forest Service. PP.21-47.

GREGORY, S. C., RISHBETH, J. and SHAW, C. G. 1991: Pathogenicity and virulence. ed by SHAW, C. G. III and KILE, G. A. Agriculture Handbook no.691, Washington DC: USDA. Forest Service. PP.76-87.

HARTIG. R. 1873: Vorläufige Mitteilung über den Parasitismus von *Agaricus melleus* und dessen Rhizomorphen. Botanische Zeitung, **31**, 295-297.

HARTIG, R. 1874: Wichtige Krankheiten der Waldbäume. Beiträge zur Mycologie und Phytopathologie für Botaniker und Forstmänner. Berlin: Springer. 127 p.

HIRAKAWA, Y. 1984: A SEM observation of microtubules in xylem cells forming secondary walls of trees. Res. Bull. Hokkaido Univ. For., **41**, 535-550.

HUBERT, E. E. 1924: The diagnosis of decay in wood. J. Agr. Res., **29** 523-567.

KORHONEN, K. 1978: Interfertility and clonal size in the *Armillaria mellea* complex. Karstenia, **18**, 31-42.

KUSANO, S. 1911: *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea*. Imperial University of Tokyo; J. Coll. Agr., **4**, 1-65.

長沢栄史・小松光太郎・前川二太郎（1991）：日本産ナラタケ（*Armillaria 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，30 p.

ROLL-HANSEN, F. 1985: The *Armillaria* species in Europe. Eur. J. For. t Path., **15**, 22-31.

SHAW, C. G., III. 1981: Infection of western hemlock and sitka spruce thinning stumps by *Fomes annosus* and *Armillaria mellea* in southeast Alaska. Plant Disease, **65**, 967-971.

SHAW, C. G., III. 1989: Root disease threat minimal to young stands of western hemlock and Sitka spruce in southeastern Alaska. Plant Disease, **73**, 575-577.

SHAW. C. G. and ROTH, L. F. 1974: Nature and distribution of *Armillaria mellea* infected roots in a young ponderosa pine forest. Phytopathology, **66**, 1210-1213.

TERASHITA, T. and CHUMAN, S. 1987: Fungi inhabiting wild orchids in Japan, IV, *Armillaria tabescens*, a new symbiont of *Galeola septentrionalis*. Trans. Mycol. Soc. Japan, **28**, 145-154.

Summary

This study examined histological characteristics of *Betula platyphylla* SUKATCHEV var. *japonica* (MIQ.) HARA and *Abies sachalinensis* (FR. SCHM.) MAST. when subjected to decay by Hokkaido *Armillaria* in Japan. The percentages of weight loss due to fungi decay on *A. sachalinensis* and *B. platyphylla* var. *japonica* were measured at 2 month and 4 month intervals. After 4 months, the percentages of weight loss caused on *B. platyphylla* var. *japonica* wood-block by *A. ostoyae*, *A. jezoensis* and *A. sinapina* were higher than those caused by *A. gallica* and *A. singula*. At both the 2 and 4 month intervals, the percentages of weight loss of *B. platyphylla* var. *japonica* were higher than *A. sachalinensis*.

As for histological characteristics, the healthy tissues (non-infected by *Armillaria*) from *B. platyphylla* var. *japonica* had normally formed vessels with scalariform perforations and pits and those from *A. sachalinensis* had normal tracheids, pit and rays. In tissues decayed by *A. ostoyae*, the hypha penetrated into the scalariform perforations of *B. platyphylla* var. *japonica* and into the pits of *A. sachalinensis*. The hypha of *A. gallica* penetrated into both vessels and rays of *B. platyphylla* var. *japonica* and *A. sachalinensis* respectively. The hypha of *A. jezoensis* penerated into the intervascular pitting of *B. platyphylla* var. *japonica* and the rays of *A. sachalinensis*. The hypha of *A. sinapina* penetrated into the scalariform perforations of *B. platyphylla* var. *japonica* and the rays of *A. sachalinensis*. The hypha of *A. singula* penerated into the intervascular pitting of *B. platyphylla* var. *japonica* and the tracheids of *A. sachalinensis*.

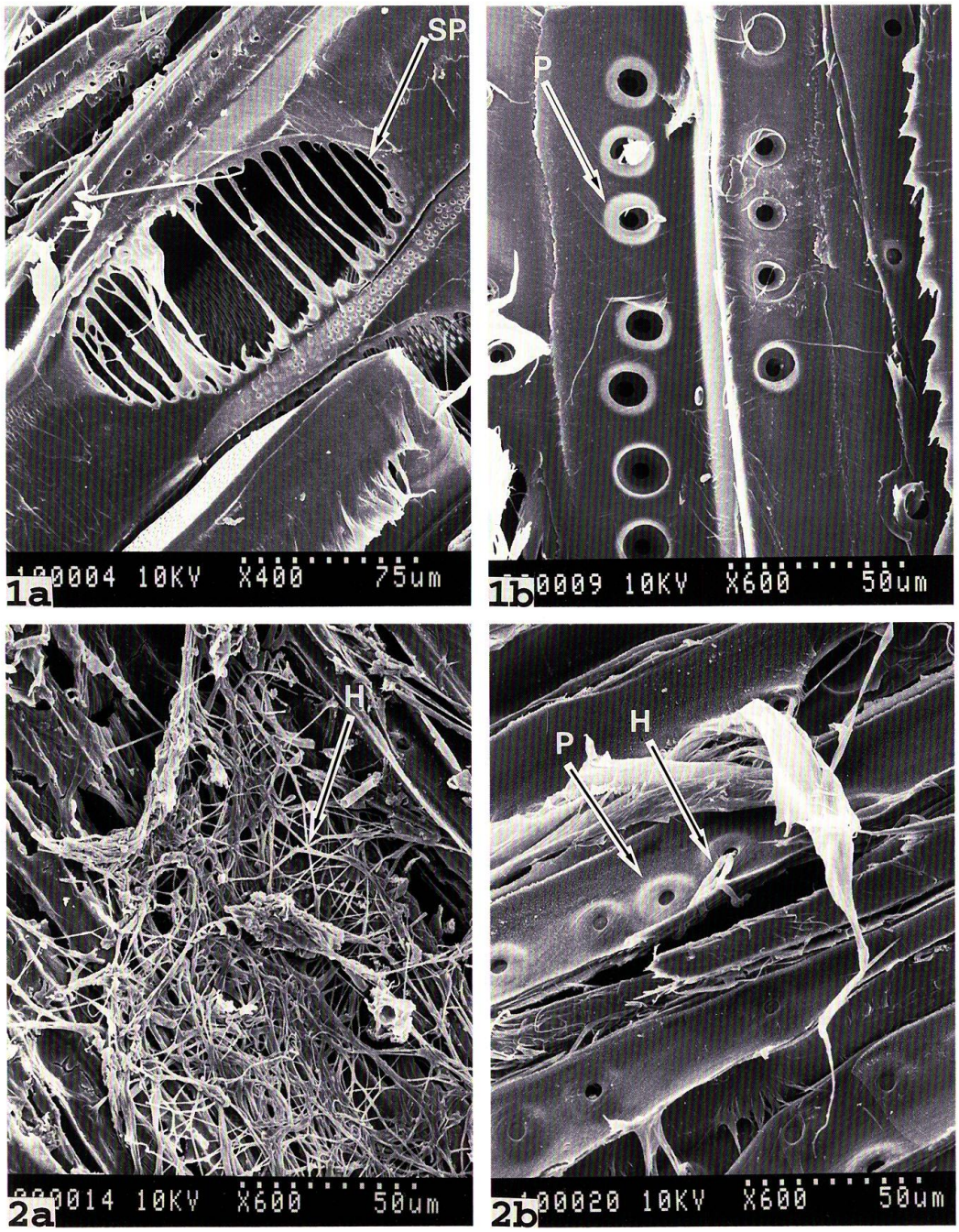

Photo 1-2. 1. Helthy wood tissue of *B. platyphylla* var. *japonica* (a) and *A. sachalinensis* (b). 2. Wood tissue of *B. platyphylla* var. *japonica* (a) and *A. sachalinensis* (b) decayed by *A. ostoyae*. H: hyphae. P: pit. SP: scalariform perforation.

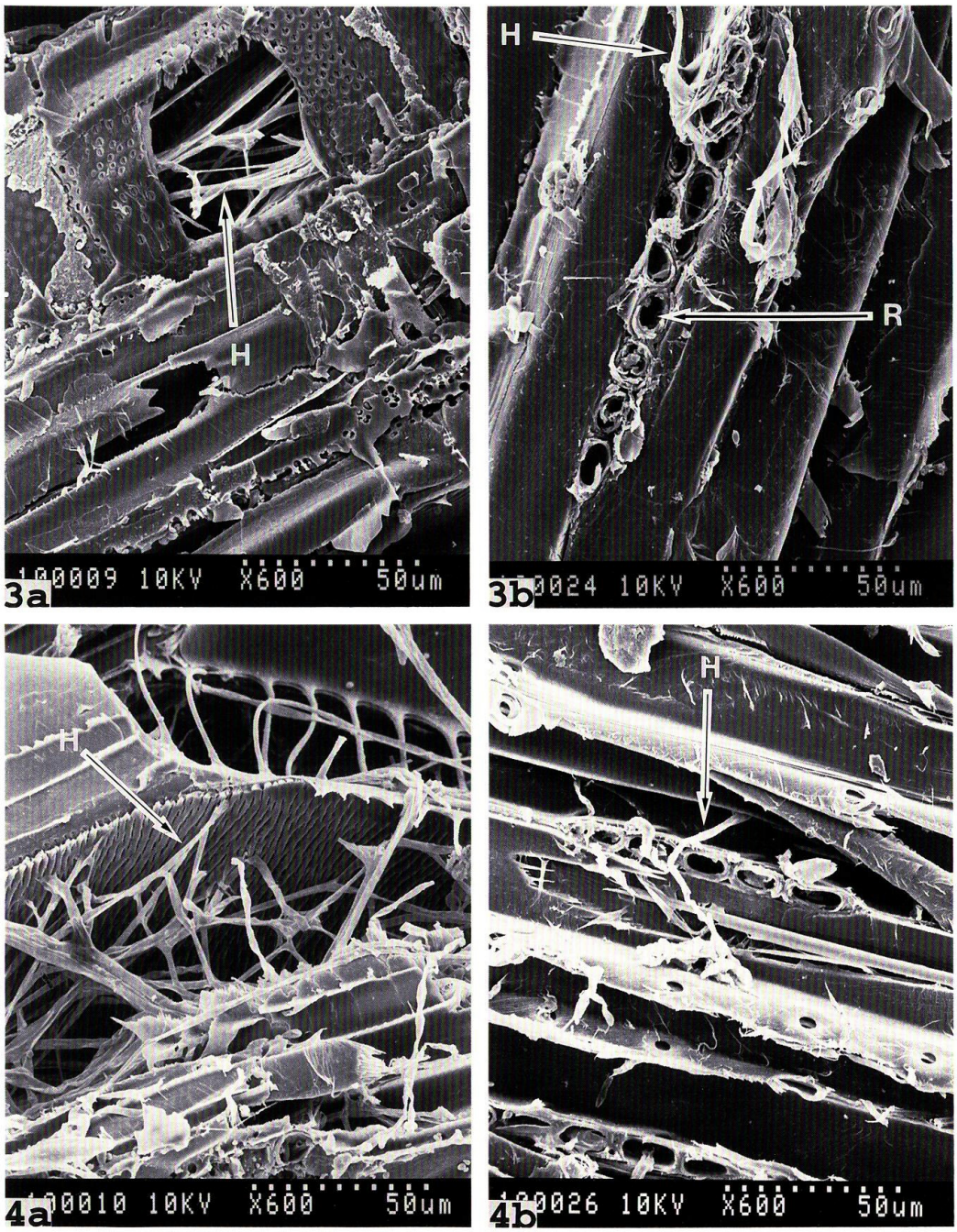

Photo 3-4. 3. Wood tissue of *B. platyphylla* var. *japonica* (a) and *A. sachalinensis* (b) decayed by *A. gallica*. 4. Wood tissue of *B. platyphylla* var. *japonica* (a) and *A. sachalinensis* (b) decayed by *A. jezoensis*. H: hyphae. R: ray.

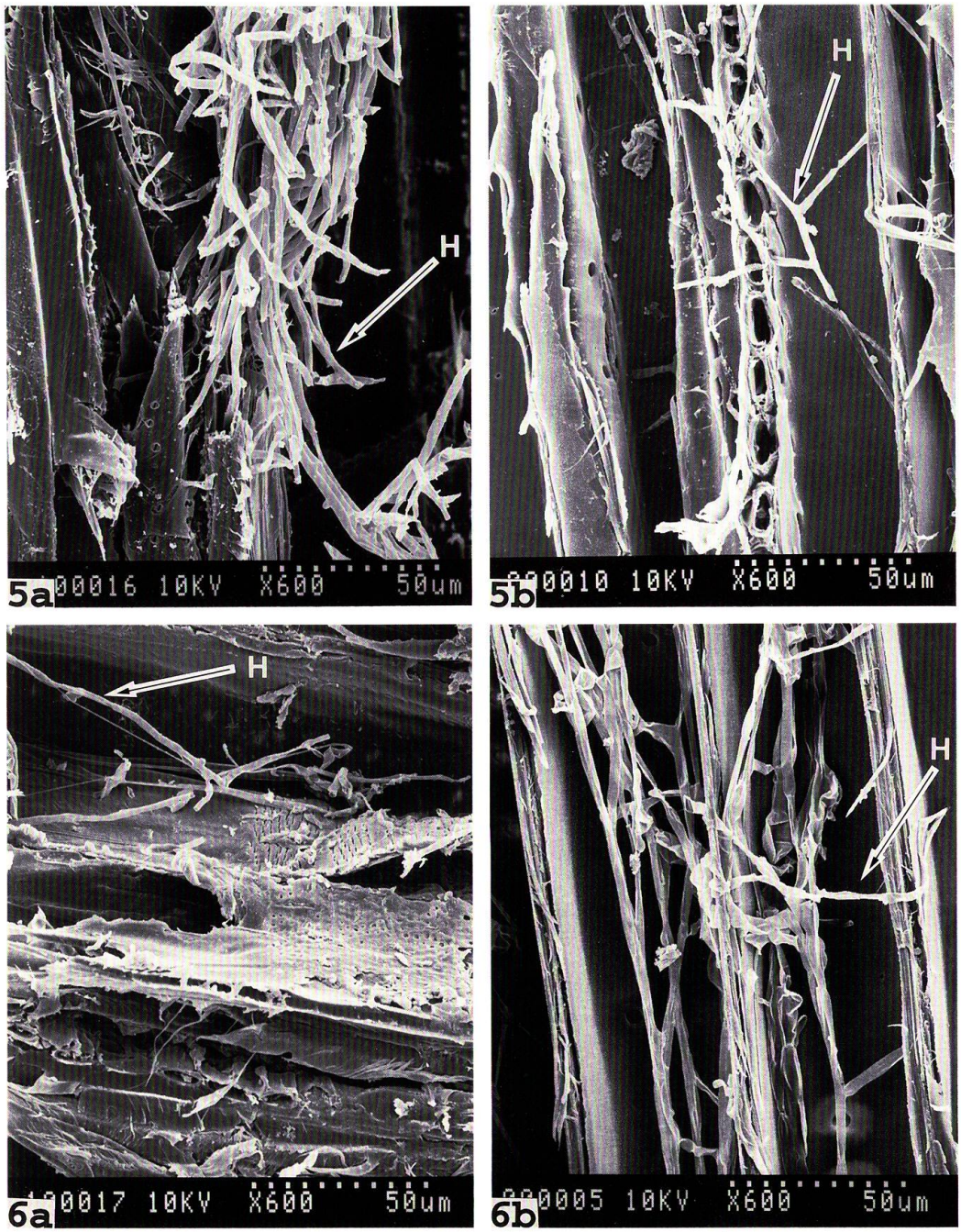

Photo 5-6. 5. Wood tissue of *B. platyphylla* var. *japonica* (a) and *A. sachalinensis* (b) decayed by *A. sinapina*. 6. Wood tissue of *B. platyphylla* var. *japonica* (a) and *A. sachalinensis* (b) decayed by *A. singula*. H: hyphae.