

平成 29 年 6 月 17 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450201

研究課題名(和文)冠水の影響下にあるマングローブ樹冠での病原菌・内生菌の宿主への影響

研究課題名(英文)Impacts by pathogenic and endophytic fungi on the shoots of mangrove trees inundated with tides

研究代表者

亀山 統一 (Kameyama, Norikazu)

琉球大学・農学部・助教

研究者番号：30264477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：琉球列島の純マングローブ樹種中、メヒルギとヒルギダマシでは、真菌類による枝枯性病害があった。両樹種の林縁部の個体では、大潮の満潮位の直上部の枝に枝枯病徴が多く見られ、しばしば樹冠が変形していた。また両樹種では、内生菌として知られる種を含む複数の弱い病原により、樹冠上部の梢端の枯死が頻発していた。両樹種ともマングローブの林縁によく出現することが知られる。それらは、枝枯性病害と梢端の枯死で樹高が低く平たい樹冠となり、その結果、林外からの風波に耐え、長期に生存していた。これらの病害と潮汐の影響が、両樹種が林縁をふちどってヒルギ林の維持していることに寄与しているとも解釈できる。

研究成果の概要(英文)：Among 7 mangrove species in the Ryukyu Islands, *Kandelia obovata* and *Avicennia marina* trees showed the frequent damages by branch dieback diseases. Severe dieback symptoms distorting tree form were often observed on the branch located just over the water level at a high tide on the adult edge trees of the both species. The affected trees of the both species also showed the twig damage in the upper part of their crown caused by a few weakly pathogenic fungi, including species known as tree endophytes. *K. obovata* and *A. marina* are known as a fringing mangrove component. The height of adult trees at the edge of the stands become smaller, and their crown develops in the flat, table-like form by the diseases and tides, which can promote their tolerance to the wind and wave power. The occurrence of branch and twig dieback on the edge tree of the mangrove stands can be one of the reason why *K. obovata* and *A. marina* are adapted to be fringing mangroves in the Ryukyu Islands.

研究分野：森林保護学

キーワード：マングローブ 冠水 枝枯病 病原菌 樹形形成 内生菌

1. 研究開始当初の背景

我が国において、樹木内生菌についての基礎的な知見が1990年代以降に集積し始めた。これまでに陸上森林を構成する一部の科の樹木について、非常に広範囲の宿主に内生する菌種の存在や、地域や季節による優占菌種の相違など、樹木病原菌の特徴と異なる内生菌の存在様式について、明らかにされてきた。マングローブの内生菌については、岡根ら (Okane et al. 1997) の先駆的な知見があり、近年は中国・台湾でも相当の研究報告がある。マングローブ林は、潮汐により林床や樹幹下部が日々冠水し、風波・土砂・漂流物で樹体が損傷を受けるという強いストレス環境下に成立する。我が国では琉球諸島に西太平洋北限域のマングローブ林があるが、一林分の純マングローブ種の出現樹種数は1~6種で、後背に接続する陸上森林の構成樹種が数百種にも及ぶのと比較すると、著しく単純な種構成である。また、それらは階層構造が単純で年齢構成も比較的均一である。こうしたマングローブ林では、その寄生微生物相は、宿主同様に単純であるのか、それとも、亜熱帯・熱帯地域の陸上森林と同様に多様な種構成を示すのだろうか。

そこで、申請者は、2007年度より科研費を受けて、琉球列島のマングローブ植物の茎葉の樹木内生菌相について検討した。その結果、主要な構成樹種からいずれも多種の内生菌が分離され、宿主・部位・場所・時期の違いによって、特定菌種が常に優占することはないが、3~4種の宿主範囲の広い菌種(これらはマングローブ林後背の陸上森林の多くの樹種でも優占的である)のうちのいずれかが優占的であることが多い、との知見を得た。

申請者は、2010年度より新たに科研費を受けて、マングローブ樹木の内生菌および病原菌の感染経路について検討した。その結果、マングローブ植物では、散布体(種子または胎生芽)が寄生菌類を新たに成立する林分に伝播する「乗り物」となり得ること、しかし、個々の成木の寄生菌類組成は、必ずしも散布体組織の菌種構成・分離率を踏襲しないことを明らかにした。これは、マングローブの茎葉組織の寄生菌類の存在には、林内外から供給される孢子等の感染の寄与が強いことを示唆する。さらに、研究の過程で、都市域の孤立マングローブ林で自然度の高い林分と著しく異なる内生菌組成を複数年観測し、マングローブ林の微生物相形成に社会圧が顕著に加わっている可能性を見出した。

一方、わが国のマングローブ林の主要構成樹種であり、琉球列島北部では優占種ともなるメヒルギには、広汎に枝枯病の発生が見いだされており、本病は上記内生菌調査林分においても、樹冠の変形や時には個体の枯死に至るほどの強い影響を宿主樹木に及ぼしている。このような樹木病害のサイクルは、樹冠下部が冠水を繰り返し、枝葉表面に着塩も

しばしば起こるようなマングローブ林の個体に特有の特徴を示すのか、それとも、陸上森林の樹木病害と同じような進行を示すのか、興味が持たれるところであった。

2. 研究の目的

マングローブ成木の茎葉は、それが伸長・展葉した時期の周辺環境に依存して、内生菌が感染定着しているように思われる。メヒルギには、数種の優占的内生菌群と多数種の新優占的内生菌群があるが、それらのどれかが局所的に優占することがあり得、かつそれは時間とともに変動しうる。たとえば、同一個体でも、樹幹下部の冠水域と上部の非冠水域で、内生菌組成が大きく異なることもある。

これに加えて、メヒルギの場合、樹冠下部の冠水域と上部の非冠水域の界面付近で、健全な梢端の枯死と不定芽形成が頻発し、当年~数年生枝の枝枯れもよく発生することが観察される。このことによって林縁部個体では、テーブル状の特異な形の樹冠がしばしば発達する。この、頻発する枝や頂芽の枯死には、メヒルギ枝枯病など強い病害の病原菌が直接寄与することも、内生菌の日和見的な発病が寄与することもあり得るであろう。

このように、マングローブ、特にメヒルギの冠水域・非冠水域界面の茎葉組織では、(1)マングローブ林と後背林に共通して優占的な数種の内生菌群、(2)優占的ではない多様な内生菌群、および(3)内生する期間のない病原菌群の3種類の菌類と宿主植物組織が、特に活発な相互関係を示しており、それが環境条件に応じて変化していく過程を観察することができる可能性がある。

冠水域の茎葉において、内生菌の分離率は低い傾向にあるが、これらの部位から比較的低率ながらも分離される菌群は、個体や林分が成立していく過程で主要な内生菌として宿主組織と相互関係を持ち、その後、感染性の高い菌群に取って代わられている可能性がある。その過程で、メヒルギやヒルギダマシ等の樹種では、衰退個体は樹冠上部が退廃して冠水部位にのみ茎葉が残ることが多いので、そこで、病原菌と既存の内生菌がおそらく拮抗的に作用していることになる。

マングローブの茎葉から比較的低率で分離される多様な内生菌群の多くは、培地上で孢子形成を行わず、形態学的分類によっては類別困難である。そこで、本研究においては、分子遺伝学的な分類手法を併用し、メヒルギを中心に、冠水域・非冠水域界面の内生菌・病原菌の菌種組成とその変化について検討したい。そのことをシュートの生育状況と比較し、シュートの成長と衰退・枯死過程における菌類相の変化を明らかにしたい。

一方で、都市域のウォーターフロント緑地や埋立事業等におけるミチゲーション事業などでは、マングローブ生態系が回復・創出

されたように見えるが、宿主・菌種組成が本来と異なる場所がある。そこで本研究では、都市域や開発地周辺の孤立マングローブ林でも調査を行い、環境負荷下で、実際に寄生菌類組成と枯死現象の関係が自然林と異なるかについても検討したい。

さらに、菌種間の拮抗性や菌種の感染力について苗木を用いて実験室的検討を加え、環境因子や宿主組織の齡変化、枝枯れや梢端枯れの過程で、病原菌・内生菌がどのように寄与しているか明らかにしたい。

沖縄島のマングローブは、島の人口が稠密である上に、米軍基地の運用や復帰後の社会資本整備等に伴い、伐採されて失なわれたり、強い人為の影響を受けたりしている。これは台湾のマングローブ林の状況とも類似している。また、中国においては近年の沿海部の爆発的な工業化により著しい環境悪化が問題となり、マングローブ植林が緑化と水質改善の両面から注目されている。ベトナムにおいても戦争被害の回復と、急速な近代化への対応としてのマングローブ林の保全や植林は重要な課題といえる。こうして、マングローブ林の多くは環境負荷のかかった状態にあることから、本研究の成果を、中長期的にはマングローブの保全研究へとつないでいきたい。

例えば、各地で拡大するマングローブ植栽林について、樹木内生菌や病原菌などの寄生菌類が、本来の生物多様性を備えているのか、また、マングローブ林に特有の機能を発揮しているのかという観点から評価し、適正な緑地形成・生態系復元をはかっていくことは極めて重要である。したがって、本研究の成果が、生物多様性のホットスポットといえる沖縄における特色ある生態系の理解・保全に役立つとともに、東アジア地域の環境改善・植林問題に資する基礎資料ともなることを期待している。

3. 研究の方法

西表島浦内川（右岸/国立公園外）に固定調査地を設定し、メヒルギおよびヒルギダマシについて、調査地内に定めた調査木の樹冠の高さの違いに応じて茎葉の生長や健全度の調査を経時的に実施できる体制を整えた。

一方、沖縄島大浦湾（大浦川・汀間川：メヒルギ）、中城湾（メヒルギ、ヒルギダマシ）においても調査地を設定し、同時期の浦内川の樹体の状態を比較できるようにした。

各調査地の直近の AMeDAS ポイントのデータと調査地の実際の気象状況について比較検討したところ、AMeDAS データは調査地の局地的・一時的な豪雨（スコール）は反映しないが、気温や降雨全般の傾向は利用できるものと判断された。

年数回現地調査を行い、樹体の状態を記録するとともに、書くマングローブ樹種の、冠

水域・非冠水域界面、すなわち、大潮の満潮位水面の直上部にある茎葉組織に枝枯れなどの病理現象が認められる場合、サンプリングして、罹病組織と健全組織から、病原菌や内生菌の分離を試みた。

また、寄生菌類の林分間・個体間の伝播経路を検討するため、散布体（樹上で発芽した種子）が得られたときに、その組織からの寄生菌類の分離試験を行った。

分離菌株は、培地上の形態により類別・同定を試みるとともに、主要な菌株については DNA を抽出して ITS 領域のシーケンスの BLAST 検索により分子同定を試みた。

4. 研究成果

(1) マングローブ植物の健全な茎葉から分離される内生菌

研究代表者が過去の科研費助成により行ってきたマングローブの樹木内生菌研究においては、自生のメヒルギ個体では、通常、茎葉から多数の内生菌種が高頻度で分離される。同じ個体では、樹冠下部の冠水域よりも樹冠上部の枝葉で、内生菌分離率や種多様性が高い傾向がある。一方、メヒルギの種子は樹上で発芽して散布体となり、その胚軸を長期間露出し、落下後は海面を長期間漂流する。この散布体の胚軸や子葉の組織においては、樹木内生菌の分離頻度は成木茎葉よりも著しく低く、また、成木の茎葉において優占的に分離される内生菌群や枝枯病病原がほとんど分離されない。

本研究でも上記の一般的傾向のとおり結果が得られたが、樹体で成熟途上の散布体では内生菌分離頻度は確かに低いが、そこから成木茎葉で優占的であるような菌群も分離されることを確認した。このことから、メヒルギ成木茎葉に内生する菌種は、もっぱら種子や散布体の段階から宿主組織に感染して伝播されるわけではなさそうであることは明らかである。だが一方、散布体に感染した菌が、実生の定着成長後に胞子形成するなどして、周辺個体に感染することが可能であるならば、多数の散布体が漂着して形成されたマングローブ林であれば、樹木内生菌がその散布体に「乗って」伝播されるだけで、隣接する陸上森林などから胞子供給を受けないとしても、その林分で内生菌群集を形成しうるともいえる。

一方、メヒルギ枝枯病病原は散布体からは全く分離されなかった。本病は、散布体に潜在感染した形で新たな個体や林分に伝播することはないと言える。だが、調査地において、本病は、樹冠下部の高頻度冠水域にある枯死枝においてその標徴が高頻度に確認された。すなわち、本病病原は枯死枝中においては汽水に浸漬しても生育し胞子形成することができるのであるから、本病は、折損した本病による枯死枝に乗って、離れた個体や

林分に伝播されうる可能性が示唆された。

また、本研究において、ヒルギダマシにおいても新たに *Fusarium* 属菌による枝枯性病害が見いだされたが、本菌もまた、健全な子葉や種子・散布体の組織からは分離されなかった。

ヒルギダマシの茎葉においては、内生菌として *Colletotrichum* spp., *Phomopsis* spp.1 が優占的であった。これらは、メヒルギにおいても優占的な菌群であるが、浦内川のメヒルギの葉において顕著に優占する *Phyllosticta* sp. については、同所のヒルギダマシでは茎と葉に低率で分離された。分離頻度の低い多様な菌群が、葉でも茎でも検出された。このように、内生菌相については、メヒルギとヒルギダマシで共通する特徴も異なる特徴もあった。

ヤエヤマヒルギ、オヒルギ、ヒルギモドキでは、高頻度冠水域の界面付近で病害の頻繁な発生などは見いだされず、冠水の影響による枝葉の成長阻害はみいだされなかった。

(2)メヒルギにおける病原菌の働き

自然度の高い西表島浦内川マングローブ調査区において、メヒルギの枯死枝の発生動態を調査し、さまざまなタイプの枯死枝に随伴する菌類の分離を試みた。メヒルギでは、これまで枝枯病の病原として *Cryphonectria* 属菌が知られており、これが枝枯れの主要な要因であり、これに加えて *Botryosphaeria* 属菌も枝枯れ症状を起こしうるものと考えられてきた。今回、上記林分の試料を用いて、*Cryphonectria* 属菌が分離されにくい条件で、枯死枝や、衰退枝の基部などから菌類の分離を試み、ITS 領域のシークエンスの BLAST 検索により分子同定を試みた。

その結果、枯死枝のうち、肥大成長の始まった茎において優占していた菌類は、*Neofusicoccum* sp. (本菌は、おそらくこれまで *Botryosphaeria* sp. とされてきたもので、最も優占的)、*Diaporthe* spp. (内生菌と考えられる *Phomopsis* spp. を含む)、*Cytospora* spp.、*Neopestalotiopsis* spp. および *Pestalotiopsis* sp. (Pes. 群) であり、1 枯死枝には 1, 2 の菌類が優占しており、多種の菌類が少しずつ分離される事例は、なかった。本部位においては、最大 5 菌群が壊死に寄与していたといえる。

一方、幼若な茎の枯死部では、より多数の菌群が壊死に寄与していた可能性が示唆された。肥大成長を始めた茎よりも細く小さな組織であるにもかかわらず、1 つの茎の分離源から多種の菌類が少しずつ分離される事例が多かったが、中でも Pes. 群の分離率が高かった。優占菌のなかった枝も多数あった。

より齢の高い、枝の基部のコブ状に肥大した組織では、内生菌として出現したことがあり、病原性も疑われる多数の菌群が出現した。このコブ状組織は、健全部から変色組織、壊

死組織まで、齢と構成が多様であることが反映して、多様な菌類が複雑な構成の組織にすみ分けている可能性がある。

このように、主要な病原菌群の所属が正されたとともに、枯死と萌芽を繰り返す枝の部位と齢によって、寄生菌類相も多様であることが確かめられた。

一方、内生菌や腐生菌と思われる菌類が分離された枯死枝もあったが、これらは、枯死要因が菌類によるものではないことが推測される。すなわち、幼若な茎は、ハマキガ類の幼虫の穿孔、昆虫や貝類の食害、風化による機械的損傷、着塩、漂着物による被陰など、付傷・衰退枯死の多様な要因がある。そこで二次寄生した菌や、いち早く活動を始めた内生菌が分離され、多様な分離菌群を構成している可能性がある。

こうして、潮汐の影響を受ける枝の枯死要因の多様性が示唆された。上記を総括すると、枯死要因として、*Neofusicoccum* sp., *Diaporthe* spp., *Cytospora* spp., *Pestalotiopsis* complex, 未同定菌 1 の関与が示唆された。これら多数の菌種が枝先を枯らすことで、大潮満潮位の直上付近で樹高成長が抑えられ、そこで萌芽が繰り返される結果、林縁部のメヒルギに特有の、テーブル状の低木樹形が形成されるようである。

これに対して、*Cryphonectria* 属菌によるメヒルギ枝枯病は、林縁木では、時に大枝や主幹の枯死を引き起こしており、それによって樹高の大幅な低下・樹形の大きな変化に寄与していると考えられた。

(3)ヒルギダマシにおける病原菌の働き

ヒルギダマシは西表島のマングローブ林においてメヒルギ同様に、海沿いの林縁部に、あるいは林外に単木状で、出現する。林内においては高木化するが、林縁・林外に出現する個体の樹形は、やはりメヒルギ同様に低樹高でテーブル状の樹冠を示すことが多い。

ヒルギダマシの若い茎葉から分離される内生菌群を、同所のメヒルギと比較すると、双方に出現する菌種もあったが、優占する菌種は常に異なった。ヒルギダマシでは、潮汐による冠水頻度の異なる位置でも内生菌の出現菌種や分離頻度が大きく異なることはなかった。

樹木病原菌に関しては、ヒルギダマシの枯死枝から、*Fusarium* sp. が高頻度で分離され、枝枯症状の病原と考えられた。本菌による枝枯れの出現頻度、および沖縄島に導入されたヒルギダマシにおける本菌の規制の有無については、検討中である。ヒルギダマシの枯死枝は、隣接するメヒルギよりより低い位置（頻繁に水没する高さ）でも出現するが、大潮満潮時の水面高よりも上部に多く観察される点ではメヒルギと一致していた。

本菌は、ヒルギダマシの健全な茎葉からは分離されなかった。また、本菌は、メヒルギ

の枝枯部および健全組織から分離されたこともない。逆にメヒルギに枝枯病を引き起こす *Cryphonectria* sp. はヒルギダマシからは分離されなかった。このように独立した病原による枝枯病害が、両樹種をよくにした樹形の形成に關与していることが示唆された。

また、*Phomopsis* sp., 未同定菌 2 の 2 菌種が枯死枝から分離された。病原性の検討がなされていないが、両菌もヒルギダマシの枝枯れに關与している可能性がある。

(4) 総括

琉球列島の純マングローブ 7 樹種中、メヒルギとヒルギダマシに異なる真菌による枝枯性病害が見られた。両樹種の林縁部の個体では、大潮の満潮位の直上部の枝に枝枯病徴が多く見られ、しばしば樹冠が変形していた。また両樹種では、内生菌として知られる種を含む複数の弱い病原により、樹冠上部の梢端の枯死が頻発していた。

両樹種とも林縁によく出現するが、枝枯性病害と梢端の枯死で低樹高が強いられ、その結果、林外からの風波に耐え、個体としては長期に生存していた。すると、枝枯性病害を「よく」利用できた両樹種が、林縁をふちどって、内側の個体への環境ストレスの負荷を軽減し、そのことによって結果的にマングローブ林の維持に寄与しているとも解釈できる。

一方、メヒルギ、ヒルギダマシの茎葉の内生菌には、数種の優占的な菌種があり、その分離頻度は場所や季節により異なる。偶々その組織へ胞子感染する機会があった菌が感染定着しているように見える。特定の内生菌種と枝枯病の発病・進展との間に、明瞭な関係は認められなかった。

引用文献

Okane, I., Nakagiri, A. and Ito, T. (1997): Preliminary study of endophytic fungi in evergreen plants from Ishigaki and Iriomote Islands. IFO Res. Commun. 18: 45-51.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

亀山 統一、沖縄島の自然環境保全の課題 - その焦点としての辺野古・大浦湾の保全、2017、日本の科学者、査読あり、52、186-191

亀山 統一、亜熱帯の島の自然・暮らしと辺野古・高江、2017、季論 21、査読なし、35、60-71

〔学会発表〕(計 3 件)

亀山 統一 (2017) 最近、沖縄県下で進め

られた樹木病害研究 樹木病害研究会 (第 128 回日本森林学会大会関連集会) 2017 年 03 月 29 日 鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)

亀山 統一 (2017) 琉球列島のマングローブにおけるヒルギダマシとメヒルギの樹木内生菌相の比較. 第 128 回日本森林学会大会 2017 年 03 月 28 日 鹿児島大学 (鹿児島県鹿児島市)

亀山 統一 (2016) 潮汐により冠水するメヒルギ樹冠の衰退部茎葉の寄生菌類. 第 127 回日本森林学会大会 2016 年 03 月 28 日 日本大学生物資源学部 (神奈川県藤沢市)

〔図書〕(計 1 件)

沖縄県、沖縄県、沖縄のみどりに発生する主要な病害虫 診断・防除の現状。(分担執筆：亀山統一「メヒルギ枝枯病」) 2017、印刷中

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
琉球大学農学部森林保護学研究室
<http://www.agr.u-ryukyu.ac.jp/kameyama>

6. 研究組織

(1) 研究代表者
亀山 統一 (KAMEYAMA, Norikazu)
琉球大学・農学部・助教
研究者番号：30264477

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者

なし

(4)研究協力者
なし