

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04506

研究課題名(和文) Ash dieback病原菌の起源地周辺での生態、多様性と移入病原菌リスク評価

研究課題名(英文) Ecology and diversity of *Hymenoscyphus fraxineus*, the causal agent of ash dieback in Europe in the areas near origin, and risk assessment as invasive plant pathogen

研究代表者

山岡 裕一 (YAMAOKA, Yuichi)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：00220236

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：ヨーロッパでセイヨウトネリコにAsh diebackを引き起こしている *Hymenoscyphus fraxineus* は、起源地に近いと考えられる日本においては、落葉葉軸上の子嚢盤より飛散した子嚢胞子が7月から9月にヤチダモを始めとするトネリコ類の生葉に感染後、静止状態でとどまり、落葉期に近づくにつれて増殖することが分かった。特に北海道では、本菌はヤチダモを主な宿主とし広範囲に分布し、その他の日本産、外国産トネリコ類にも感染可能であるが、一部のビロードトネリコ以外に被害は確認できなかった。本菌の宿主茎部への移動を抑制する宿主の抵抗性反応、越冬環境などの生育環境が発病に影響していると考えられる。

研究成果の概要(英文)： *Hymenoscyphus fraxineus* causing a lethal disease known as ‘ash dieback’ of *Fraxinus excelsior* in Europe is considered to be originated from East Asia. In Japan, this fungus produces apothecia on decomposing leaves of manshurian ash, *F. mandshurica* from middle July to early September. Results of detection of the fungus from periodically collected leaves of *F. mandshurica* by real-time PCR assays using species specific primers revealed that after infected the living leaves of by ascospores, *H. fraxineus* endophytically inhabited in them until defoliation. This fungus was also able to infect other *Fraxinus* species, including *F. excelsior*, *F. pennsylvanica*, and *F. augustifolia*, but no serious damages like ash dieback were observed in these ashes except for one population of *F. pennsylvanica* in Hokkaido. Some resistant reactions controlling movement of the fungus into stem tissues and/or environmental factor like overwinter condition might affect on symptom development.

研究分野：植物寄生菌学

キーワード：菌類 植物病理学 樹病学 分類学 内生菌 生活環 侵略的外来種

1. 研究開始当初の背景

トネリコ属 (*Fraxinus*) は北半球に分布するモクセイ科の広葉樹で、数十種が知られ、ほとんどの種は温帯地域に分布する落葉樹である。日本にも、野球のバット等に使用されるヤチダモやトネリコをはじめ約 10 種が分布している。ヨーロッパを中心に分布するセイヨウトネリコも、木材として固くて丈夫であり、産業上極めて重要な有用樹種である。

1992 年、ポーランドにおいてセイヨウトネリコの葉から枝、やがては生立木全体が枯れあがる新病害、Ash dieback の発生が確認された。この病害は周辺諸国に次々に広がり、各地で甚大な被害を起し、2012 年までに、スカンジナビア半島、イギリス、ロシアにまで広がった (Gross et al. 2014)。また、ヨーロッパからアフリカ北西部、アジア南西部にまで分布するホソバトネリコ、北アメリカに分布するニグラトネリコやピロードトネリコが、本菌に感受性であることが確認されており (Drenkhan and Hanso 2010, Kirisits et al. 2010)、より広い地域への被害拡大が懸念されている。ヨーロッパでは、様々な研究が行われているが、いまだ有効な防除法がない。

Ash dieback の病原菌は、当初、ヨーロッパに元々分布していた子囊菌類、ピョウタケ目の *Hymenoscyphus albidus* と同定された (Kowalski and Holdenreider 2009)。しかし、詳細な形態観察と遺伝子解析の結果、本菌が *H. albidus* とは別種であることがわかり、現在は *H. fraxineus* (= *H. pseudoalbidus*) と命名されている (Baral et al. 2014)。本菌は Hosoya et al. (1993) が日本のヤチダモ上で発見していた菌と同一であることが判明し (Zhao et al. 2012)、さらに、日本の集団に比べヨーロッパの集団の遺伝的多様性が極めて低いことから、本菌の起源は日本を含む東アジアにあり、なんらかの原因でヨーロッパに侵入し、起源地とは異なる宿主に病原性を発揮し、侵略的外来種として急速に拡大したと考えられている (Zhao et al. 2012, Gross et al. 2013)。

H. fraxineus は、日本ではヤチダモ落葉の葉軸上で子囊盤を発生し、腐生菌として認識されており (Hosoya et al. 1993)、ヤチダモを始めとするトネリコ属の樹木では、Ash dieback のような病害発生の報告はない。起源地に近いと考えられる日本において、本菌がどのように暮らしているのか、ヤチダモに対して病原性を有するのかなど全く不明であった。

Gross et al. (2015) は、日本に分布するシオジからも、本菌の姉妹種と考えられる *H. linearis* を発見した。シオジ、セイヨウトネリコ、ヤチダモは、トネリコ属の中でも互いに近縁であり、*H. fraxineus* に類縁な多様な集団がこれらの種に存在する可能性がある。起源地近くでの *H. fraxineus* の生態解明、新たな移入病原菌発生のリスクを評価する上で、これら菌群の系統関係や宿主植物との対応関係の全貌解明が望まれる。

2. 研究の目的

本研究では、(1) 日本における *H. fraxineus* の生態、(2) トネリコ属植物の発病状況およびトネリコ属植物と関係する *H. fraxineus* とその類縁菌の多様性、(3) これら菌類の病原性とトネリコ属植物の抵抗性、(4) これら菌類に対する内生菌等の拮抗作用を明らかにし、日本で発病を抑制している要因および移入病害発生メカニズムを解明するとともに、これら菌群の移入病原菌としてのリスク評価のための基盤を構築する。

3. 研究の方法

(1) 日本における *H. fraxineus* の生態

① 長野県のヤチダモ上での挙動

日本における *H. fraxineus* の生活環を明らかにするため、筑波大学山岳科学センター菅平高原実験所 (以下、菅平) 内に生育するヤチダモ成木を調査木とした。2015 年に、前年に落葉し偽菌核化した葉軸上に本菌の子囊盤が形成され始める 7 月から当年に展開した複葉が落葉する 10 月中旬まで期間、約 1 週間間隔で 12 回、2 複葉を採集した。小葉と葉軸は表面殺菌し菌の分離および *H. fraxineus* 種特異的プライマー (Ioos et al. 2009) を用いた定量 PCR による DNA 検出、定量に供試した。

② 北海道の外国産樹種上での挙動

森林総合研究所北海道支所 (以下、森総研) の樹木園に植栽されているヤチダモ、ピロードトネリコの各 1 個体、および北海道大学札幌研究林札幌試験地 (以下、北大) のセイヨウトネリコ 1 個体を調査対象とした。展葉する 2017 年 6 月から落葉する 10 月下旬の間に約 2 週間間隔で、1 樹種当たり無病徴の 5 複葉を選び、本菌の種特異的プライマーを用いた定量 PCR による DNA 検出、定量を行った。

(2) トネリコ属植物の発病状況

北海道、長野県、茨城県において、ヤチダモを中心にアオダモ、トネリコ、シオジ、シマトネリコならびに外国産のセイヨウトネリコ、ピロードトネリコ、アメリカトネリコ、チョウセントネリコ、ホソバトネリコについて枝枯れ症状などの発病調査、落葉上での子囊盤形成を調査した。

森総研および北大で採取したヤチダモ、セイヨウトネリコ、ピロードトネリコ、アメリカトネリコ、チョウセントネリコ、アオダモ、トネリコ (以上 *Fraxinus*) およびコバタゴ (*Fontanesia*) の 2 属 8 種 10 個体については、2016 年秋の落葉期に複葉を採取し、その一部は本菌の種特異的プライマーによる DNA 検出用試料とした。また、残りの複葉は試料ごとにリターバックに入れて野外で越冬後、翌年夏の子囊盤形成の有無を調査した。また、4 月中旬には一部の葉軸を回収し、DNA 検出および近紫外光を照射による子囊盤形成誘導を行った。

(3) *H. fraxineus* とその類縁菌の多様性

本研究中に採集された *Hymenoscyphus* sp., *H. fraxineus* を含め *Hymenoscyphus* の ITS シークエンスを系統解析した。各シークエンスにはシークエンス ID (SeqID) が与えられており、それが由来する菌株 (FC)、菌株の分離源となった証拠標本 (TNSF) とともに管理されている。すでに得られている全 *Hymenoscyphus* の ITS 219 シークエンスを MAFFT にてアラインメントし、特に divergent なシークエンスを除去し、再度アラインメントし、MEGA7 にて NJ 法で解析 (ブーツストラップ 1000 回) した。

上記の解析で得られた *H. fraxineus* が含まれるクレードのみを取り出して、再度アラインメントした。

(4) *H. fraxineus* とその類縁菌の病原性とトネリコ属植物の抵抗性

① 有傷接種

主茎部への1点有傷接種試験：長野県でヤチダモ落葉上に形成された子囊盤から得た *H. fraxineus* 単子囊胞子分離菌株3株を、2% 麦芽エキス寒天平板培地上で培養し、接種源とした。ポット植えヤチダモ苗 (樹高60~70 cm) およびホソバトネリコ‘レイウッド’ ((高さ30 cm) シマトネリコ台木) 苗の主茎部に含菌寒天片を有傷接種 (直径6 mmのコルクボーラーで皮層部を除去) し、23°C・14時間明期のグロースチャンバーで栽培した。5反復接種を行い、21日後に壊死病斑の大きさ (長径、短径) および接種部横断面の変色部中心方向への大きさ (深さ) を計測した。また0.05%酸性フクシン水溶液を吸水させ通導阻害の有無を確認した。

主茎部への多点有傷接種試験：本接種試験には2菌株を使用した。各菌株の含菌寒天片を1本のヤチダモ苗の主茎部に4か所 (直径6 mm) 接種し、グロースチャンバーで栽培した。5反復ずつ接種を行い、外部病徴を経時的に観察し、0~2の病徴進展度 (0:無病徴、1:黄化・萎凋、2:枯死) として記録した。

② 子囊胞子接種

北海道富良野市で採取した本菌の子囊盤を形成したヤチダモ葉軸を接種用ポリバケツのふた内側に貼り付け、22°C・48時間湿室に保ち、ヤチダモとホソバトネリコの苗各5本に子囊胞子を接種した。接種した苗は20°C・14時間明期のインキュベータで栽培し、病徴の進展を観察した。病徴の進展は、0:変化なし、1:小葉・葉軸上に褐色微小点形成、2:褐変または黄化、3:複葉の部分枯れ、4:複葉全体の枯れ、5:全葉落葉の6段階に分けて評価した。

また、*H. fraxineus* に対するトネリコ属植物の抵抗性を評価する目的で、菅平で採取した本菌の子囊盤を用い、同様の方法で子囊胞子を暴露接種したホソバトネリコおよびヤチダモ葉を、接種24、48および96時間後に固

定し、そこから全 RNA の精製を行い、リアルタイム PCR により防御応答遺伝子の発現解析を試みた。

③ 野外での暴露接種

2015年6月に菅平に生育するヤチダモ成木個体に隣接した区画内にヤチダモ (非感受性) 60本とホソバトネリコ (感受性) 20本の苗を植栽し、*H. fraxineus* 子囊胞子の暴露接種を行った。定期的にそれぞれの樹種の各3苗から1複葉を採取し、表面殺菌後、種特異的プライマーを利用した定量 PCR による菌体 DNA の検出および定量を行った。2017年にも同様の実験を行った。

④ *H. fraxineus* の毒素生産と病原力

H. fraxineus の毒素生産と病原力の関連性を明らかにするため、国内のヤチダモ葉軸上より採集された *H. fraxineus* 9菌株を用い、病原毒素と考えられている viridiol 産生能の有無について検討した。米培地で2ヶ月培養し、MeOH を加える過・濃縮を3回繰り返して得た培養エキスを水と EtOAc で液液分配し、各菌株の EtOAc 抽出エキスを HPLC 分析を行った。HPLC クロマトグラムは viridiol の極大吸収波長 UV= 320 nm で表示した。また、子囊盤が形成されたヤチダモ落葉葉軸からも抽出を行い、viridiol 産生を調査した。

(5) 内生菌等の *H. fraxineus* 拮抗微生物の探索

2016年7月および9月に森総研および北大で採集した国内産、外国産のトネリコ属植物6種と近縁のコバタゴの複葉、および2017年6月から10月に菅平で採集したヤチダモの複葉から菌類の分離を行った。分離菌株は、形態および rDNA ITS 領域塩基配列情報に基づき同定した。また、分離菌株と *H. fraxineus* との対峙培養試験により、拮抗作用の有無を確認した。

4. 研究成果

(1) 日本における *H. fraxineus* の生態

① 長野県のヤチダモ上での挙動

分離の結果、本菌は2015年9月7日に採集した小葉から1菌株のみ分離され、この方法では、生葉からの本菌の検出が困難であることが分かった。一方、定量 PCR では、同年7月以降に採取した小葉、葉軸から検出された。7月中旬から9月下旬にかけては DNA 濃度は極めて低かったが (0.005 µg/ml 前後)、落葉期の10月13日には小葉、葉軸の全てから高濃度 (最大で 0.05 µg/ml) で本菌の DNA が検出された。この間、ヤチダモには枝枯れ等の病徴は全く認められなかった。

以上の結果より、長野県のヤチダモでは、7月から9月に落葉葉軸上の子囊盤より飛散した子囊胞子が生葉に感染するものの、その後

は静止状態でとどまり、落葉期に移行するのに伴い増殖すると推測された。

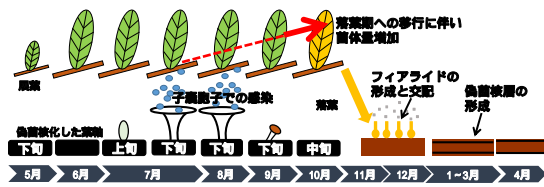


図 1. ヤチダモ上での *H. fraxineus* の生活環

②北海道の外国産樹種上での挙動

ヤチダモ、セイヨウトネリコ、ピロードトネリコのいずれの場合も、本菌の子嚢盤形成が確認された7月以前の試料からも僅かではあるが本菌のDNAが検出された。

ヤチダモでは、9月上旬までは菌体DNA濃度は0.005 µg/ml前後を推移していたが、9月中旬以降に増加する傾向が認められた(最大値:小葉で0.007 µg/ml、葉軸で0.022 µg/ml)。顕著な枝枯れ症状が認められなかったセイヨウトネリコでは、落葉前の11月初旬まで、菌体DNA濃度は0.005 µg/ml前後を推移し(最大値:小葉で0.01 µg/ml、葉軸で0.007 µg/ml)、明瞭な増加は認められなかった。一方、枝枯れ症状を示すピロードトネリコでは、8月中旬までは菌体DNA濃度は0.005 µg/ml前後であったが、8月下旬から増加傾向を示し(最大値:小葉で0.034 µg/ml、葉軸で0.01 µg/ml)、3樹種中で最も高い値を記録した。

以上の結果より、本菌はこれら3樹種の生葉に感染し、その後静止状態でとどまるが、3樹種間で活動が活発になる時期が異なることが明らかになった。

(2) トネリコ属植物の発病状況

今回調査した日本産および外国産トネリコ類では、森総研のピロードトネリコ以外 Ash dieback に類似する枝枯れ等の症状は認められなかった。また、北海道の10調査地点すべてで、ヤチダモ落葉上で本菌の子嚢盤形成が確認できた。一方、長野県、茨城県、埼玉県での5調査地点のヤチダモでは、菅平をのぞき子嚢盤形成が確認できなかった。

北大および森総研で採取した8樹種10個体すべての落葉期複葉から、本菌のDNAが検出された。さらに、ヤチダモ、ピロードトネリコ、セイヨウトネリコ、アメリカトネリコの落葉葉軸上では子嚢盤形成が確認できた。

以上の結果より、本菌は北海道のヤチダモが自生する地域では広範囲に分布しており、ヤチダモ他の日本産、外国産のトネリコ類や近縁のコバタゴ複葉に侵入・定着する可能であるが、ほとんどの場合枝枯れ等の症状を示さないことが分かった。

(3) *H. fraxineus* とその類縁菌の多様性

Hymenoscyphus 全体の解析結果は、図2に示した。サポート値はいずれのクレードでも低かったが、この中で *H. fraxineus* はよく

まとまっており、遺伝子の違いもほとんどなかった。本種はシオジにストロマをつくり、同様の形態をもつ *H. linearis* が姉妹群となったが、それ以外に周囲にはストロマをつくる種はなかった。また、葉にストロマをつくる点で共通している *H. ginkognis* (イチヨウの葉にストロマをつくる) は、系統樹上では離れた場所に位置した。このことから、ストロマは収斂の結果であり、*H. fraxineus* は類縁菌 *H. linearis* とともによくまとまった菌群と考えられた。

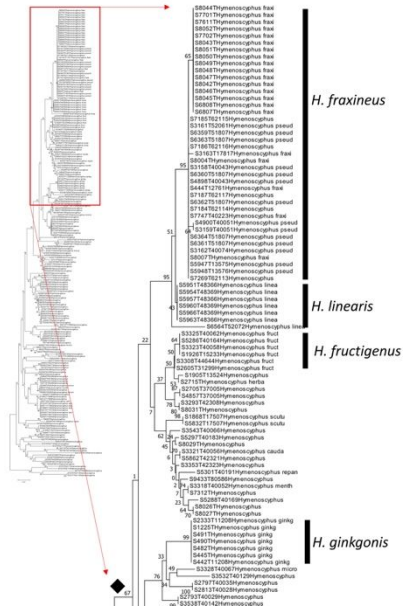


図 2 . rDNA ITS-5.8S 領域を用いた *Hymenoscyphus* の NJ 法系統解析結果

また、前述の北大および森総研で採取したヤチダモ、ピロードトネリコ、セイヨウトネリコ、アメリカトネリコ、およびその他の地域で採取したヤチダモ上の子嚢盤由来の菌株から得た ITS 領域の塩基配列は、既存の *H. fraxineus* の配列と100%一致した。

(4) *H. fraxineus* とその類縁菌の病原性とトネリコ属植物の抵抗性

①有傷接種

主茎部への1点有傷接種試験:本菌の接種により、ヤチダモ苗の皮層に壊死病斑、辺材に変色部が形成された(表1)。接種部横断面には変色部が形成され、FC-5345、FC-5348菌株では髄との境界部分まで変色が到達していた。壊死病斑と変色部からは *H. fraxineus* が再分離され、変色部では3菌株すべてで通導阻害が確認された。

表 1 . 1点有傷接種により形成された病斑の大きさ

菌株	ヤチダモ		赤ソバトネリコ	
	皮層部の壊死病斑 径径 (mm)	辺材部の変色 径径 (mm)	皮層部の壊死病斑 径径 (mm)	辺材部の変色 径径 (mm)
FC-5345	49.4 ± 22.7b	9.0 ± 1.23a	2.0 ± 0.71b	13.8 ± 4.09b
FC-5346	8.6 ± 0.89a	6.0 ± 1.00a	1.3 ± 0.45ab	28.8 ± 6.50c
FC-5348	48.1 ± 6.00b	7.4 ± 0.89a	1.6 ± 0.89ab	21.2 ± 6.99d
Control	8.4 ± 0.89a	7.8 ± 2.49a	0.6 ± 0.42a	7.8 ± 0.45a

ホソバトネリコ苗の皮層にも同様に壊死病斑、辺材に変色部が形成された。ヤチダモに比べ、壊死病斑はやや小型であった。

主茎部への多点有傷接種試験:FC-5345菌株を接種した苗では、接種11日後に1本の苗で萎凋(進展度1)が見られ、21日後には計4本で萎凋が見られた。FC-5346菌株接種苗では接種10日後に1本の苗で萎凋が見られ、21日後には2本が枯死(進展度2)、1本が萎凋を示した。接種部周辺では壊死病斑、変色部の形成が確認され、辺材の変色部では通導阻害が認められた。

以上の結果より、有傷接種では、本菌は、これまで抵抗性とされてきたヤチダモに対しても病原性を有することが分かった。

②子嚢胞子接種

コントロール区では、接種1.5ヶ月まで顕著な病徴は認められなかった。本菌を接種したホソバトネリコでは、接種9日後の段階で複葉の一部に褐変を示す苗が観察され、その後褐変が拡大していき、接種25日後にはすべての苗で複葉の部分枯れあるいは全体枯れ(病徴進展度4、5)が観察された。最終的に63日後の段階で全ての苗で複葉全体の枯れが観察された。一方、ヤチダモでは、全ての苗で、接種9日後に褐色微小点が観察され(病徴進展度1)15日後までこの状態が続いた。その後、複葉の葉枯れが急速に進み、接種37日後には、すべての苗で病徴進展度4以上となり、コントロール区と比較して、接種区のヤチダモでは複葉の落葉が20日以上早く起きた。

リアルタイムPCRにより防御応答遺伝子の発現解析については、プライマー設計の問題と考えられる不具合により、結果を得ることができなかった。

③野外での暴露接種

定量PCRの結果、ヤチダモ、ホソバトネリコの苗ともに、8月上旬以降落葉まで本菌のDNAが検出された。ヤチダモでは9月下旬までDNA量は低濃度で検出頻度も低かった(小葉で最大33%、葉軸で最大20%)が、ホソバトネリコでは9月下旬にDNA濃度、検出頻度とも上昇した(小葉で最大80%、葉軸で100%)。10月中旬に落葉する前に、ホソバトネリコでは葉枯れ症状が認められた。翌年春ヤチダモ苗は新芽が展開したのに対し、ホソバトネリコではすべての苗で新葉は展開せず、前年の枝がすべて枯死した。

2017年に実施した実験では、ホソバトネリコ上で落葉期前に葉枯れ症状が認められなかったが、越冬したすべての苗の枝が枯死した。しかし、11月上旬に両樹種各5個体を筑波大学に移管して経過観察を行ったところ、春に枝枯れ症状は認められなかった。

以上の結果より、子嚢胞子による感染後 *H. fraxineus* はヤチダモとホソバトネリコ上での

挙動が異なり、ホソバトネリコの枝枯れを引き起こした。しかし、冬期の環境などの要因が枝の枯死に影響を与えている可能性が示唆されたが、今後積雪による被害の可能性も検討する必要がある。

④ *H. fraxineus* の毒素生産と病原性

国内で採集された *H. fraxineus* 9 菌株すべてから、量の多寡はあるものの、viridiol 生産能があることが確認された。また、子嚢盤が形成された落葉軸抽出エキス中において viridiol が検出されたため、腐生生活状態でも viridiol が生産されていることが確認された。

(5) 内生菌等の *H. fraxineus* 拮抗微生物の探索
いずれの植物からも *Diaporthe* (*Phomopsis*) 属菌が分離された。また、落葉期が近づいた9月に採集した各樹種の葉柄および葉軸の調査の結果、ヤチダモを除く各植物からクロサイワイタケ科菌類が分離された。一方、セイヨウトネリコ(北大)の落葉葉軸に時折発生が認められ、対峙培養試験で *H. fraxineus* との拮抗反応が認められている *Xylaria* sp. は分離されなかった。

(6) 総合考察とまとめ

以上の研究結果より、ヨーロッパでセイヨウトネリコに対し甚大な被害を引き起こしている *H. fraxineus* は、日本では、落葉葉軸上の子嚢盤より飛散した子嚢胞子が7月から9月にヤチダモを初めとするトネリコ類の生葉に感染後、静止状態でとどまり、落葉期に近づくとも増殖することが分かった。特に北海道では広範囲に分布している普通種であるが Ash dieback のような激害は引き起こしていない。病徴を示していない北海道のセイヨウトネリコ他の外国産トネリコ類でもほぼ同様の挙動をすると考えられた。一方、枝枯れ症状を示していたピロードトネリコでは、感染後の活動開始時期がやや早い傾向が示された。

有傷接種では、本菌がヤチダモに対しても病原性を示すことが確認できたことから、ヤチダモを含む日本産のトネリコ類では、本菌が子嚢胞子で感染後、落葉期前に活動が高まることを防ぐ何らかの要因が働いていると考えられる。北海道で生存しているセイヨウトネリコについても本菌の活動を抑制する何らかの要因が働いていると考えられる。この要因の一つとして、生葉中に共存する内生菌の拮抗作用を想定したが、今回はこの要因を明らかにすることはできなかった。

子嚢胞子接種ではヤチダモ上で過敏反応様の病斑形成や感受性と考えられるホソバトネリコよりも早く複葉が落葉した。ヤチダモ生葉では本菌の増殖が落葉期まで抑制されることから、本菌の起源地に近い地域に自生するヤチダモは、何らかの抵抗性反応により、本菌の生葉内での増殖、茎部への移動を抑制している可能性が高いと考える。

また、子嚢胞子接種したホソバトネリコの越冬環境の違いが病徴進展に影響を与えている可能性があり、この要因を明らかにすることも、移入病害発生メカニズムの解明につながると思われる。

<引用文献>

- Baral HO, Queloz V, Hosoya T, 2014. *Hymenoscyphus fraxineus*, the correct scientific name for the fungus causing ash dieback in Europe. *IMA Fungus* **5**, 79-80.
- Drenkhan R, Hanso M, 2010. New host species for *Chalara fraxinea*. *New Disease Reports* **22**, 16
- Gross A, Hosoya T, Zhao YJ, Baral HO, 2015. *Hymenoscyphus linearis* sp nov: another close relative of the ash dieback pathogen *H. fraxineus*. *Mycological Progress* **14**, 1-15.
- Gross A, Holdenrieder O, Pautasso M, Queloz V, Sieber TN, 2014. *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the causal agent of European ash dieback. *Molecular Plant Pathology* **15**, 5-21.
- Hosoya T, Otani Y, Furuya K, 1993. Materials for the fungus flora of Japan. *Trans Mycological Society of Japan* **34**, 429-432.
- Ios R, Kowalski T, Husson C, Holdenrieder O, 2009. Rapid in planta detection of *Chalara fraxinea* by a real-time PCR assay using a dual-labelled probe. *European Journal of Forest Pathology* **125**, 329-335.
- Johansson SBK, Vasaitis R, Ihrmark K, Barklund P, Stenlid J, 2010. Detection of *Chalara fraxinea* from tissue of *Fraxinus excelsior* using species-specific ITS primers. *Forest Pathology* **40**, 111-115.
- Kirisits T, Matlakova M, Mottinger-Kroupa S, Halmschlager E, Lakatos F, 2010. *Chalara fraxinea* associated with dieback of narrow-leaved ash (*Fraxinus angustifolia*). *Plant Pathology* **59**, 411.
- Kowalski T, Holdenrieder O, 2009. The teleomorph of *Chalara fraxinea*, the causal agent of ash dieback. *Forest Pathology* **39**, 304-308.
- Zhao YJ, Hosoya T, Baral HO, Hosaka K, Kakishima M, 2012. *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the correct name for *Lambertella albida* reported from Japan. *Mycotaxon* **122**, 25-41.

5. 主な発表論文等

[学会発表](計4件)

- ① 岡根 泉・井上貴仁・石賀康博・出川洋介・細矢 剛・山岡裕一. 2017. *Hymenoscyphus fraxineus* はヤチダモの生葉に内生する. 環境微生物学会合同大会 2017.
- ② 若菜大悟・武田尚・細江智夫・山岡裕一・岡根泉・出川洋介・阿部淳一・細矢剛・升屋勇人. 2017. 国内ヤチダモ落枝葉から単離された *Hymenoscyphus fraxineus* の viridiol 産生能. 環境微生物学会合同大会 2017.
- ③ 井上貴仁・岡根泉・阿部淳一・石賀康博・

細矢剛・山岡裕一. 2016. 日本産 *Hymenoscyphus fraxineus* に対するヤチダモ及びセイヨウトネリコの反応. 平成 28 年度日本植物病理学会大会.

④ Inoue, T., Okane, I., Hosoya, T., Degawa, Y., Ishiga, Y. and Yamaoka, Y. 2015. An ash dieback pathogen, *Hymenoscyphus fraxineus* endophytically existing in the leaves of *Fraxinus mandshurica* in Japan, Asian Mycological Congress 2015 (AMC2015), Goa, India,

6. 研究組織

(1)研究代表者

山岡 裕一 (YAMAOKA, Yuichi)
筑波大学・生命環境系・教授
研究者番号: 00220236

(2)研究分担者

岡根 泉 (OKANE, Izumi)
筑波大学・生命環境系・准教授
研究者番号: 60260171

出川 洋介 (DEGAWA, Yosuke)
筑波大学・生命環境系・准教授
研究者番号: 00311431

石賀 康博 (ISHIGA, Yasuhiro)
筑波大学・生命環境系・助教
研究者番号: 50730256

細矢 剛 (HOSOYA, Tsuyoshi)
(独) 国立科学博物館・植物研究部・グループ長
研究者番号: 60392536

細江 智夫 (HOSOE, Tomoo)
星薬科大学・薬学部・教授
研究者番号: 10287849

(3)連携研究者

升屋 勇人 (MASUYA, Hayato)
(独) 森林総合研究所・東北支所・チーム長
研究者番号: 70391183

阿部 淳一 (ABE, Junichi)
筑波大学・生命環境系・助教
研究者番号: 40292510

(4)研究協力者

玉井 裕 (TAMAI, Yutaka)
北海道大学・(連合) 農学研究科・准教授
研究者番号: 50281796

山口 岳広 (YAMAGUCHI, Takehiro)
(独) 森林総合研究所・北海道支所・チーム長
研究者番号: 00353897