

## 菌根性きのこの林地における増殖

京都府林業試験場 技師 藤田 徹

実用技術としてみた場合、菌根菌の林地における増殖は食用きのこの栽培法としての技術と、微生物肥料あるいは微生物農薬として菌根菌を利用する技術の二つが考えられるが、現在のところ、後者の研究はほとんどなされていない。今回は食用きのこの栽培法としての林地増殖について当场における研究成果を中心にその現状と問題点を紹介したい。

### 1. 環境調節

環境調節は林地を目的とする菌根性きのこの増殖に適する形に作り変える作業である。きのこが発生しているか近隣に発生地があるかして胞子が自然飛来するような林地で実施すれば発生促進効果があり、マツタケ、ホンシメジ等で実用的な増殖技術として一般林家に普及されている。代表的な例としてマツタケの発生環境整備施業を紹介する(図-1)。

1) 適地判定：施業すれば効果が期待できる林地かどうか、またどのような施業が必要かを調べる。調査項目は林の状態や地形、土壌型等多岐にわたるが、近年の調査で特に根の状態が重要であることが確認されている(表-1)。

また、施業を行うのに適した林齢は20~30年生前後が標準だが、これはマツタケが発生を開始する林齢が25年生前後の場合である。実際にはマツタケが発生を開始する林齢は地域差が大きいため(図-2)、地域の状況に合わせて判定を行わなければならない。

2) 植生手入れ：主として雑木類の整理を行い、宿主であるマツを元気にするとともに林内の日当たりと風通しを良くする。通常マツと競合する大型の雑木及び風通しを悪くする林床植生は全て伐採し、中型の雑木は適度な被陰が行れるよう一部を残して伐採する。また、場合によってはマツの除間伐等も行う。

3) 地表手入れ：腐植層をかきとりマツタケと競合する微生物を減らすとともにマツの細根をB層上部に移動させる。

4) 保育管理：翌年以降再生してくる雑木類を整理して作り変えた環境を維持する。また、松くい虫被害木の伐倒駆除等も実施する。

京都府では600箇所以上の林地でマツタケの発生環境整備施業がなされており、平成3年に実施したアンケート調査の結果では回答のあった319箇所中施業効果が認められた林地の割合は約34%であった。施業効果が認められなかった林地の中には施業の不十分な例もあり、適地にな十分な施業が実施された場合の成功率はもう少し向上すると考えられるが、菌の増殖を基本的に自然飛来の胞子に頼っている状態ではあまり高い成功率は望めない。このため有効な人工接種技術の開発が求められている。

### 2. 根の処理等

どれほど優れた接種源でも根と接触して菌根を形成してくれなければ意味はな

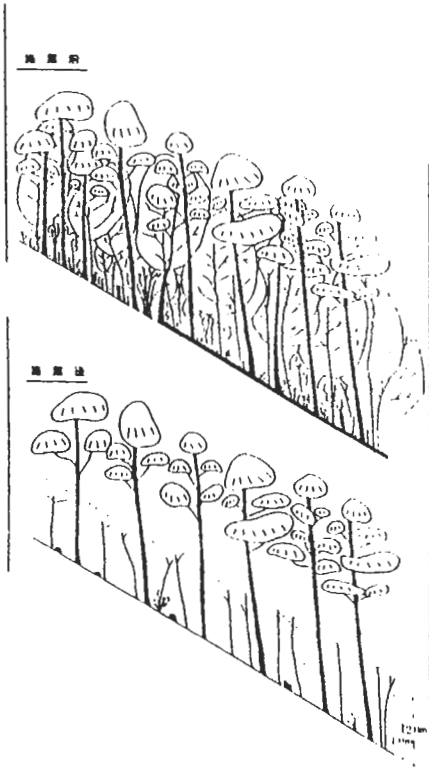


図-1 マツタケ発生環境整備施業  
模式図

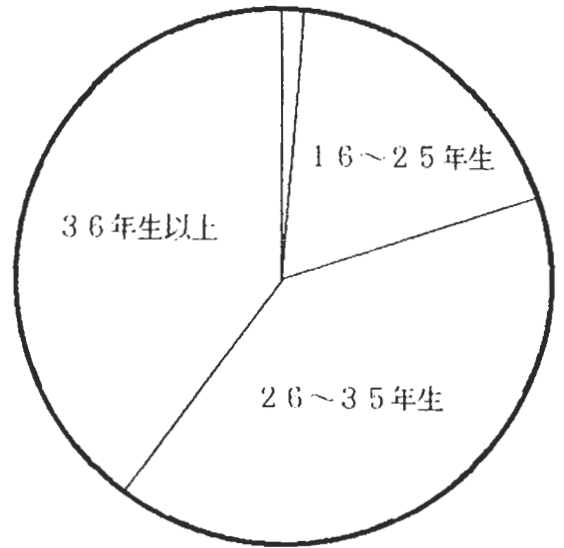


図-2 マツタケが発生を開始し始める林齢（京都府のアンケート調査より）

表-1 マツの根の状態に対する対応（京都府の場合）

マツの根の状態	対応
腐植層（A層）に細根が集中している。	他の条件に問題がなければ施業は可能。ただし、腐植層のかきとり施業を実施し、細根をB層上部に移動させる必要がある。
マツタケの生息層位（B層上部）に細根が多い。	他の条件に問題がなければ施業の適地である。
細根が全体的に少ないか土壌の深いところ（B層下部）に集中している。	林齢等他の条件を考慮し、B層上部に根が増えるまで施業を延期するか、不適地として施業を中止するかを決める。

い。人工接種を成功させるためには接種源に十分な量の細根を誘導する必要がある。このため、断根や集根等の施業が研究されてきた。マツの場合、断根による新根の形成促進は直径1 cm程度の根に行った場合が最も効果が高かった。また、時期的にはマツの根が休眠状態にある2～3月に断根を実施した場合は効果が認められたが、4月以降の処理では効果は認められなかった。集根施業や孢子播種以外の人工接種も根の切断を行うことになるため、実施時期は2～3月が好ましいと考えられた。その他、園芸用の発根促進剤による処理や、腐植をかき取った部分に客土を行う処理も新根の誘導に効果が認められている。

また、ホンシメジ等では発生促進処理でもある焚火跡処理や炭の埋設も接種の前処理として用いられている。

### 3. 孢子を用いた人工接種

孢子はいわばきのこの種であり、その意味では最も確実性の高い接種源といえる。また、発生地さえあれば容易に入手でき一般林家でも扱いやすい点も長所である。孢子をけんだく液にして林地に播種する孢子播種は成功率は低いが手軽にできるため普及に移されており、マツタケ等で少数ながら成功例がある。

マツタケ等いくつかの菌根菌は孢子の発芽率が低く研究を進める上で障害になっていたが、滋賀県森林センターの太田氏が低濃度(0.002%)の酪酸を培地に添加することによりマツタケ等の孢子の発芽率を向上させられることを明らかにした。これにより、従来データの取りにくかった実験が可能となり、孢子の採取道具の選択(表-2。和紙を用いるのが有効で、アルミホイルやラップフィルムだと短期間の保存で孢子が死滅する)や孢子の保存性(紙につけたまま冷蔵保存した場合が保存性がよい)等実用技術に結びつく成果も得られている。しかし、酪酸の発芽促進効果は短時間の処理では現れないため(当場の試験例では24時間程度の処理ではほとんど効果がなかった)、林地への播種に直接酪酸を利用するにはまだ研究が必要である。

### 4. 感染苗木を用いた人工接種

菌根菌のシロは毎年生長するので、シロの生長していく先に苗木を植栽しておけばその根にも菌が感染する。このようにして菌を感染させた苗木を感染苗木と呼び人工接種源に利用されている。昭和58年に広島県立林業試験場がマツタケの人工接種に成功した他、ホンシメジやショウロでも成功例がある。

感染苗木もきのこの発生地さえあれば特別な施設がなくとも生産できる。しかし孢子採取と異なりシロの一部を切りとるため、大量生産ができない、元のシロが衰弱しきのこの発生量が減少する等の問題がある。また、ショウロ以外は成功例が少なく(マツタケ、ホンシメジともきのこの発生したのは1例のみ)、現段階では実用的とはいえない。感染苗木法が成功率が低いのは照度不足や菌の過剰感染による衰弱のため苗木が枯死したり環境の変化によって感染した菌が死滅するためであり、これらの点を改善すれば成功率は向上するという意見もあるが、シロを痛めるとい問題が依然残る。これを解決するため、培養菌糸を用いて感染苗木と同じものを作る研究が行われている。

培養菌糸を用いて苗木に菌根を合成する研究の大半は、容器内で無菌苗を育成しここに菌を接種して菌根を形成させるというもので、全処理を無菌状態で行うため菌根の形成は成功しやすい。また、完全な無菌状態ではなく、根の部分のみを無菌あるいはそれに近い状態にする等の簡易な方法で接種を行うことも研究されている。これらの菌根合成苗木は従来屋外への順化が困難とされていたが、近年滋賀県森林センター等で屋外への順化に成功した例がある。しかし、順化後菌根を維持させることが困難であり、研究の課題となっている。また、生産に手間がかかる等の問題もあり、実用的な接種源とするには解決すべき課題が多い。

## 5. 培養菌糸を用いた人工接種

培養菌糸は随時大量に生産できるため、人工接種法と接種源の生産体制さえ確立できるなら接種源としては最も優れている。しかし、人工的な環境で培養したものを直接屋外にだすことになるため困難も多く、特に土壤微生物による汚染が問題となっている。このため、微生物汚染からの防御を中心に様々な研究がなされている。現時点ではホンシメジについて京都府で菌根形成に成功しており、山口県林業指導センターでもきのこの発生に成功したと考えられる例がある。また、この他にもホンシメジを含むいくつかのきのこで成功したのではないかと考えられる事例がある。

1) 栄養源：培地に添加する栄養源については高濃度にして活力の高い菌糸を育てるという考え方と低濃度にして微生物汚染がおきにくくするという考え方がある。

高栄養で培養した菌糸は活力が高く、周囲の土壤に広がりやすい。大型の培地を使うと菌糸の蔓延が遅くなり老化して活力の低下する菌糸がでてくるが、これは小型の培地で培養した菌糸を複数まとめて使用したり、種菌を接種するとき接種源をかくはんして種菌が全体に散らばるようにする等の方法で対処できる。しかし、土壤微生物の汚染は栄養源が低濃度の場合よりおきやすい。

マツタケ等の菌根菌は腐生性のカビ類より低栄養条件に強い。このため、培地中の栄養源が低いと微生物の汚染はおきにくい。また、栄養源を減らすことには菌糸を飢餓状態にして菌根形成を促進するという目的もある。しかし、植物病理学では飢餓状態の植物病原菌は衰弱して植物の防御機構を突破できなくなるという知見があり、菌根菌でも類似した結果が得られた実験例がある。

このように栄養源の濃度をどうするかについては一長一短があり、他の条件と併せて検討が必要である。なお、ホンシメジの成功例はいずれも高栄養の培地を使用している。

2) 培地の材料等：培養菌糸は液体培地で培養したものを直接使用することもあるが、通常は土壤への順化のしやすさ等から土壤やその他の園芸資材を支持体にした固形培地が接種源として用いられることが多い。

固形培地を用いる場合、土壤やそれに近い園芸資材が支持体として用いられることが多い。土壤単体より、園芸資材を加えたり園芸資材だけにした方が菌糸の蔓延は早くなるが、菌糸密度は低くなる。また園芸資材にも、木炭のよう

にホンシメジ等の成長を促進するもの、パーミキュライトのように菌糸の蔓延は早いですが土壌に埋め込んだとき過湿になりやすいもの等、様々な性質を持つものがあり、どれをどのように使用するかも研究の課題となっている。

3) 物理的方法による微生物汚染の防御法：ごく単純に接種源を何かでくるむという方法が考えられているが、完全に外界と隔離すると接種源にならないのでこのあたりが研究の課題となっている。また、グラム陰性細菌は菌根菌より乾燥に弱いので培地の通気性を良くして乾燥しやすくしこれらの菌の増殖を抑える等、材料や構造を工夫して微生物汚染を抑制する方法も研究されている。

4) 化学的方法による微生物汚染の防御：主として殺菌剤を用い、接種源に添加したり接種予定地に散布する等して微生物汚染を防除する方法が研究されている。使用する殺菌剤は菌根菌に影響がないか、他の土壌微生物に菌根菌に対するより低い濃度で効果を発揮するものが好ましい。ただし、土壌微生物は種類が多岐にわたるため、その全てを抑制・排除するのは困難である。また使用量によっては発生するきのこへの残留の危険も考えなければならない。

5) 生物的方法による微生物汚染の防御：土壌微生物の中には菌根菌への影響が少ないものや菌根菌の生長を促進するもの等がある。これらの土壌微生物を接種予定地で増殖させることにより微生物汚染を防御し、シロ形成を促進する方法が研究されている。しかし、既に土壌微生物が生息しているところに特定の種類を増やすことになるため、単純に散布しただけでは一時的に増加するだけに終わってしまう。このため、有効な担体を検索する等の研究が必要である。

この他にも多様な技術・手法が研究に取り入れられ、様々な接種源が研究されている。一例として、京都府で開発した菌根菌の人工接種源(図-3)を紹介する。

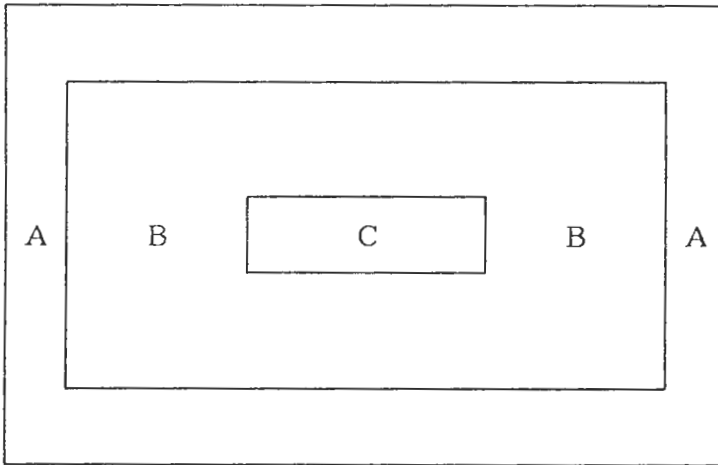
この人工接種源は化学的方法による微生物汚染の防御を主体とするもので、菌根菌に影響の少ない殺菌剤を使用して微生物汚染を防いでいる。しかし、これらの薬剤を菌根菌に影響のでない程度の濃度で使用しても土壌微生物を完全に排除することはできない。そのため、この接種源では接種源全体に拡散した場合に菌根菌に影響のでない濃度になる量の薬剤を接種源の外側だけに集中させた(Aの部分)。その内側は緩衝物となる滅菌土で(Bの部分)、ホンシメジを用いた林地での接種試験の結果、この部分の通気性が高いと菌糸が広がりやすいことが確認された。核となる培養菌糸(Cの部分)は土壌を支持体にした高栄養の培地を用いたもので、高活力の菌糸を大量に得るため直径3cm厚さ1cmの小型の培地を使用し、これを6個まとめて使用した。現在、ホンシメジ及びマツタケについて接種試験を実施しており、ホンシメジについて3例で菌根形成を確認している。また、薬剤を使用しない試験例でも菌根形成が1例確認されており、菌糸が広がりやすい緩衝物と十分に高活力の菌糸を用いれば薬剤による防御は必要としない可能性もある。

## 6. 菌根の識別

菌根菌は菌根形成からきのこの発生まで長期間を要し、マツタケで5年前後、

表-2 採取用具別の孢子発芽率

	採取直後に播種	24時間後に播種	4日後に播種
和紙	$13.0 \times 10^{-3}\%$	$11.5 \times 10^{-3}\%$	約 $9.0 \times 10^{-3}\%$
アルミホイル	$1.2 \times 10^{-3}\%$	$0.2 \times 10^{-3}\%$	0%
ラップフィルム	$3.2 \times 10^{-3}\%$	$0.5 \times 10^{-3}\%$	0%



A : 殺菌剤を含んだ滅菌土

B : 滅菌土

C : 高密度の培養菌糸

図-3 京都府で開発したホンシメジ用人工接種源

表-3 ホンシメジ菌根培養用培地

ホンシメジ菌根培養用培地		
栄養源	グルコース	2.0%
	ポリペプトン	0.2%
	イーストエキス	0.2%
	リン酸1カリウム	0.1%
	硫酸マグネシウム	0.1%
薬剤	ベノミル	10ppm
	エクロメゾール	10ppm
	クロラムフェニコール	100ppm
	カナマイシン硫酸塩	100ppm

・栄養源は常法のGYP培地である。マツタケの菌根を培養する場合は浜田培地か太田培地を使用する。

・エクロメゾールはプロシミドン1ppmに、クロラムフェニコールはテトラサイクリン100ppmに、カナマイシンはカスガマイシン100ppmに、それぞれ置き換えることができる。

ホンシメジで3年前後必要であるとされている。人工接種の研究を進める場合、きのこの発生を待って成否の判定を行うと時間がかかりすぎるため、菌根の段階で識別する方法が求められていた。

1) 外見からの識別：菌根の形態や色彩等から菌の種類を識別することは可能だが熟練を要する。しかし、他の識別法に用いるサンプルの採取のためにも目的とする菌根菌の菌根の形態程度は確認しておく必要があると考えられる。

2) 菌の分離培養：菌根からの菌糸の分離培養はコンタミが激しいため困難であるが、ホンシメジのように培養しやすい菌であれば菌根を十分に洗浄し表面殺菌をおこなえばある程度は培養できる。1%のアンチホルミンで15分表面殺菌を行った場合、活性菌根帯の菌根であれば約20%の確率で菌糸が培養できた。また、薬剤を用いてコンタミを抑えることにより(表-3)洗浄した菌根で約50%の確率で菌糸が培養でき、また、低確率だがマツタケについても培養に成功した。これらの培養菌糸をアイソザイム分析することにより菌の種類を識別できた。しかし、菌の培養に通常より時間がかかる等の問題がある。

3) その他の方法：抗体等を用いてより簡易な識別を行う方法が研究されている。近年民間の研究機関でDNAプローブを用いてホンシメジ及びマツタケの識別に成功しており、確実性が高いことや識別に要する時間が短いこと等から将来的にはこうした方法が主流となると考えられる。

## 7. 発生管理

発生管理のうち、林地の環境を維持する作業は環境調節の項で紹介した。その他の処理として、目切り直後のきのこにポリキャップ等をかぶせて虫の食害等を防ぎ品質を向上させる処理や衰弱したシロに客土して活性化を図るシロの改造処理等があり、一定の成果があがっている。より大規模な処理としてシロの冷却による早期発生処理や灌水処理等が行われ効果を挙げた例があるが、林地での増殖技術として考えた場合、大規模な施設や頻繁な作業を必要とする処理は位置的に恵まれた場所でない限り実用的ではないと考えられる。

## 8. 問題点と今後の課題

人工接種技術の確立等に技術的な課題は残されているが、将来的に解決される展望はあると考えられる。むしろ今後問題となるのは林地における増殖の位置付けではないか。ホンシメジ等で菌床を用いたきのこの発生が可能となっており、食用きのこに関しては将来特に困難なものでない限り菌根菌であっても施設栽培が中心となる可能性が高い。マツタケのように施設栽培化が困難なきのこも多く、また、施設栽培可能なきのこであっても野菜に対する山菜のような位置付けが行えれば林地増殖を行う意味はあると考えられるが、こうした対応をとっていくためには増殖の目的を明確にし、林地で行う必要があるのか、またどのような位置付けで林地増殖を行うかを考えて行かなければならないだろう。