

樹木デンプンによる菌根性きのこの人工培養

藤原 直哉

Artificial culture of mycorrhizal mushrooms by tree starch

Naoya FUJIWARA

要 旨

藤原直哉：樹木デンプンによる菌根性きのこの人工培養 岡山県農林水産総合センター森林研究所研報38：11-21（2023） 樹木デンプンの培地利用を目的として、アカマツ苗木の細根に由来するデンプンと、成木の内樹皮の利用を検討したところ、内樹皮をアルコール処理することにより、マツタケ菌糸の菌糸束を形成させることが可能になった。また、低濃度のフィチン酸を培地に添加することにより、マツタケ菌糸の成長が促進されることが確認された。さらに、感染苗への利用を前提に、広葉樹コンテナ苗の育成を検討した結果、培土の容量や組成、保水性について知見を得られ、界面活性剤の培地添加により、保水性が向上することが示された。そして、直射日光によるコンテナ内部の温度上昇を反射材によって抑制可能であること、市販の成長抑制剤による苗木のコントロールが困難であることが判った。その他、広葉樹コンテナ苗が凍結によって被害を受けやすいこと、林地への活着率が半数以上であること、防獣柵がイノシシやニホンジカには有効である一方で、ノウサギ等小動物に対しては課題があることがそれぞれ明らかになった。

キーワード：培地、フィチン酸、感染、コンテナ苗、内樹皮

I はじめに

岡山県は、全国3位のマツタケ生産量を誇る有数の産地である（岡山県 2021）。そのため、マツタケの人工培養に関する強い要望があり、また、ホンシメジ等他の菌根性きのこのについても、従来の自然発生だけでなく、さらなる増産が望まれている。こうした背景から、食用菌根性きのこの菌糸を、人工的に苗木に感染させた後、林地に植栽することにより、きのこの発生を促進する感染苗についても、量産化や育成技術の効率化が望まれている。そこで、菌根性きのこの感染苗について、効率的な量産技術を開発し、人工栽培の規模を拡大することとした。

また当研究所では、アカマツ特有のデンプンを培地に添加することにより、菌糸束を形成する（藤原 2020）マツタケの培養方法（特許6221039号）を開発した。しかし、天然物であるアカマツのデンプンを培地として用いる場合、菌糸の成長を阻害する化学成分が混入するなどの課題がある。そこで、細根の採取時期、マツタケ菌の培養方法を改良し、現在の菌糸束から原基形成への手掛かりを得るなど、マツタケの人工栽培には、一層の改良が必要である。

研究の実施にあたり、種菌の培養技術と感染苗の量産技術、感染苗の植栽試験の3つを目標とした。まず、種菌の培養技術について、マツタケ菌は、菌糸の成長が非常に遅く、培養期間が数カ月と非常に長いので、これを短縮する目的で、菌糸の成長促進作用を持つ化合物の施

用を検討した。本実験では、植物体内に含まれる貯蔵形態のリンであり、また、糖化酵素アミラーゼの活性を高めることが知られているフィチン酸（中谷 1996）を既存培地へ添加し、マツタケ菌への影響を調べた。

次に、樹木デンプンの採取源として、これまで、10年生以上のアカマツの細根を利用していたが、伐採や切り株の掘り起こし等の作業が伴い、煩雑であるため、その省力化を目的として、2年生苗木の細根からのデンプン分離と、その利用を検討した。同様の理由により、マツタケ培養用培地への添加物として、糖類などの光合成産物の通導組織として知られているアカマツ内樹皮の利用について適用性を調べた。

また、岡山県山林種苗協同組合と広葉樹コンテナ苗を育苗し、菌根性きのこの感染苗として育成した場合の、コンテナ容器の容量の適合性、培土の比較を行った。そして、苗木の成長阻害の原因となる高温について、コンテナ内部温度の抑制試験を実施した。

さらに、コンテナ苗の成長を調節する目的で、成長抑制について試験した。こうして育成したコンテナ苗については、現地植栽試験を進め、地域への技術定着に努めた。試験地の設定にあたり、シカやイノシシ等の獣害を防ぐため、防獣柵を設置し、その効果を検証した。

なお、本課題は、共同研究の外部知見活用型・産学官連携研究事業「樹木デンプンによる菌根性きのこの人工培養（2019～2021）」で実施した。

II 材料と方法

1. 樹木デンプンの利用

(1) 採取時期別培養試験

2019年の5月初旬と11月下旬、2020年の3月中旬に、所内のほ場で育成した2年生アカマツ苗木を掘り取り、細根を切断後、水道水で洗浄し、5日間自然乾燥した。その後、送風乾燥機(ADVANTEC FC-612)によって、40℃、12時間、送風乾燥処理を行った後、ハンマークラッシュャ(SANSHO NH-34S)で粉碎した。この粉末を水道水に懸濁し、1mm目のフィルターでろ過した懸濁液を沈殿させた後、上澄み液を廃棄し、沈殿物を冷蔵庫内で乾燥・固化させた。固化させた沈殿の粉末10gを、改変OH寒天培地(組成:イーストエキス1.0g/l、ハイポネックス0.5g/l、寒天12.0g/l、水酸化カリウムでpH5.1に調整。)1lに添加し、オートクレーブで120℃、10分間滅菌後、滅菌シャーレに30mlずつ分注し、アカマツデンプン添加寒天培地(以下、Ps培地とする。)を作成した。このPs培地に、OH寒天培地で前培養したマツタケコロニー(系統:NBRC108264)を、直径5mmのコルクボーラーで菌糸体を打ち抜き、接種した。これを、気温24℃、暗黒条件下で60日間培養した。

(2) フィチン酸添加培養試験

フィチン酸は、基質に含まれるタンパク質と結合することにより、 α -アミラーゼの無効吸着を抑制する効果がある。フィチン酸を、0,0.1,0.5,1.0mMの濃度で添加した改変OH寒天培地に、OH寒天培地で前培養したマツタケコロニー(系統:哲多79)を、直径5mmのコルクボーラーで菌糸体を打ち抜き、接種した。これを、気温22℃、暗黒条件下で60日間培養後、菌糸伸長量を測定した。

また、フィチン酸を、0,0.01,0.1,0.5mMの濃度で添加した改変OH寒天培地に、あらかじめOH寒天培地で前培養したマツタケコロニー(系統:美咲2016)を、直径5mmのコルクボーラーで菌糸体を打ち抜き、接種した。これを、気温24℃、暗黒条件下で50日間培養後、菌糸伸長量を測定した。なお、菌株の美咲2016は、保存菌株のなかで、最も伸長が遅いことを特徴としている。

次に、培養後のコロニー先端部を、コルクボーラー(直径5mm)で各10個を打ち抜き、その重量の3倍量(V/W)の蒸留水を添加後、室温条件下で3時間、往復振とう(100往復/分間)し、そのろ液を酵素活性測定試験に用いた。酵素活性の測定は、糖化力分別定量キット(キッコーマン)、 α -アミラーゼ測定キット(キッコーマン)を用い、それぞれの取扱説明書に従った。なお、酵素反応時間は、45℃、2時間とした。

(3) 内樹皮培養試験

予備試験として、2020年11月に、所内の10年生アカマ

ツを伐採後、内樹皮を山菜採取用のコテで剥皮、採取した。これを短冊状(幅1.0cm×長さ5.0cm)に加工後、蒸留水3mlを添加した試験管に入れた後、120℃、10分間オートクレーブで滅菌した。この内樹皮を、マツタケ培養用の改変OH培地(イーストエキス1.0g/l、ハイポネックス0.5g/l、グルコース10.0g/l、寒天12.0g/l、水酸化カリウムでpH5.1に調整。)で継代培養中のマツタケコロニーに上置きし、気温24℃で培養した。

次に、2021年4~10月に、所内の18年生アカマツ林のアカマツを伐採後、内樹皮を剥皮した。この内樹皮を40℃の条件で送風乾燥した後、ハンマークラッシュャで粉碎し、粉末状に加工した。この内樹皮の粉末10g/lを改変OH培地に添加し、120℃、10分間オートクレーブで滅菌した。これを滅菌シャーレに30mlずつ分注後、前培養したマツタケ種菌を接種した。これを気温24℃で培養した。なお、内樹皮の粉末を、20倍容量(W/V)の80%エタノールに72時間浸漬後、20倍容量の水道水で3回リンス処理を行い、冷蔵庫内で乾燥させた加工品について、上記と同様に、マツタケ菌の培養試験を行った。

2. 広葉樹コンテナ苗の育成

(1) 界面活性剤の効果検証

培土の撥水性を抑制する目的で、農業分野で使用される界面活性剤は、粒剤、液剤など10種類以上の市販品が確認されたが、今回は比較的入手しやすい「サチュライド(粒剤、オーシャン貿易、以下、S剤)」を使用した。

市販の150cc容量コンテナ(JFA150,5×8=40孔)に、培土{鹿沼土(細粒)1:赤玉土(細粒)4:ピートモス5(体積比)、S剤15g/培土10L混合}を充填後、コンテナごと重量を測定した。また、それぞれ培土が飽和するまでかん水後、24時間経過後のコンテナ重量を測定し、含水率を求めた。供試数は、S剤を混合していないコントロールを含め、各3枚とした。

雑菌汚染を抑制するため無施肥とし、コンテナの底部には、粉碎バーク(真庭木材組合)を底敷きとして少量充填した(以下、同様。)

なお、(1)~(3)の試験は、2019年9月末から10月中旬まで所内で実施した。

次に、所内で採集したシラカシを、2019年11月に、S剤を添加した培土(ココピート)に播種し、2020年8月まで育成した。管理は、2020年3月下旬~同年5月中旬まで、所内の温室内で、適宜かん水し、その後、露地に移動した。施肥は、ハイポネックス(粉剤)3,000倍希釈液を、2週間に1回程度与え、発芽率を調査した。

(2) コンテナ容量比較試験

針葉樹の樹苗生産者が一般的に使用している市販の150cc容量コンテナ(JFA150,5×8=40孔)と、390cc容量コンテナ(LIECO,3×5=15孔)に、培土{鹿沼土

(細粒) 1 : 赤玉土 (細粒) 4 : ピートモス 5 (体積比), S 剤 15g/培土 10L 混合} を充填後, コンテナごと重量を測定した。また, それぞれ培土が飽和するまでかん水後, 24 時間経過後のコンテナ重量を測定し, 含水率を求めた。なお, 培土には界面活性剤として S 剤を混合した。供試数は, 各 12 枚とした。

広葉樹の育成では, 2019 年 11 月初旬～中旬に, 所内および津山市内の広葉樹林より, ナラガシワ, クヌギ, ウバメガシ, シラカシの種子を採集した。これらの種子は, 選別後, コンテナに直接播種したうえで, 適宜, かん水しながら育成した。供試数は, コンテナ各 1 枚を目安とした。

培土に用いたピートモスは酸性であり, きのこの菌糸に有害な細菌の繁殖を抑制する作用が強いと考えられたことから使用した。一方, ココビートは強い抗菌作用を持つフェノール性物質を豊富に含み, きのこの菌糸の繁殖を強く抑制する可能性が高いことから, 培土材料としては使用しなかった。

(3) コンテナ培土比較試験

390cc 容量コンテナ (LIECO, $3 \times 5 = 15$ 孔) に, 前述の鹿沼土, 赤玉土, ピートモス, S 剤を混合, 充填後, それぞれのコンテナ重量を測定した。その後, 各コンテナの培土が飽和するまでかん水後, 再度コンテナの重量を測定し, さらに, 24 時間経過後のコンテナ重量を測定した。供試数は, 各 12 枚とした。

広葉樹の育成は, 前述と同様に, ナラガシワ, クヌギ, ウバメガシ, シラカシを播種した。また比較として, 所内採種園より採取した抵抗性アカマツ, クロマツを播種した。なお, これらについては, 育成に一定の期間を必要とするため, 次年度以降の試験材料とした。

(4) コンテナ内部温度抑制試験

2020 年 5 月下旬～6 月初旬, 予備試験として, 150cc 容量コンテナ (JFA150, $5 \times 8 = 40$ 孔) に, 培土 {ピートモス 4 : 鹿沼土 (細粒) 1 (体積比), S 剤 15g/培土 10L 混合} を充填した。そして, コンテナの長辺方向の側面を, ラッカー系スプレー (白色) で塗装後, 直射日光が当たるように, 野外に南東向きで設置した。コントロールとして, 従来の黒色コンテナも設置し, 自動温度記録装置 (アンリツ, AM-8000) で, コンテナトレイ内の内壁の温度を, 各 6 反復で測定した。



図-1 アルミシート被覆によるコンテナ昇温抑制試験

次に 8 月中旬, これらのコンテナを, プラスチックダンボール (白色), アルミシートの 2 通りで被覆し (図-1), 前述と同様に設置し, コントロールとともに, 容器内の温度, 気温を各 3 反復で測定した。

(5) 成長抑制試験

2020 年 7 月下旬, シラカシ {150cc 容量コンテナ (JFA150, $5 \times 8 = 40$ 孔)} 各 30 本について, 樹高と地際径を測定後, 市販の成長抑制剤 (商品名: パウンティフロアブル, 以下, BF 剤) の 250 倍希釈液, 500 倍希釈液を 1 回散布した。コントロールとして BF 剤を散布しない散布無し区を設定した。その後, 12 月上旬に再度計測し, 成長量を比較した。

また, 2021 年 7 月中旬, BF 剤をコナラとクヌギについて適用し, 成長抑制剤の施用効果を調べた。コナラは, 2020 年度に播種した 1 年生コナラのコンテナ苗 24 本を用いたが, クヌギは, 2019 年度に播種した 2 年生クヌギのコンテナ苗 23 本を用い, それぞれの半数に, BF 剤の 500 倍希釈液を, 霧吹きで苗木全体が滴る程度, 葉面散布した。なお, 残り半数の苗木をコントロール (以下, コントロール区) とした。その後, 苗木の育成を 11 月まで続け, 落葉後, 苗木の樹高を測定して, 両者を比較した。

(6) 広葉樹コンテナ苗木育成試験

2021 年 9 月下旬, 390cc 容量コンテナ (LIECO, $3 \times 5 = 15$ 孔) に, ピートモス 5, 鹿沼土 (小粒) 1.5, 赤玉土 (小粒) 2, 赤玉土 (中粒) 1.5 (数値は体積比) を混合した培土に, S 剤 15g/培土 10L を添加し, コンテナトレイ 80 枚に充填した。これらに, 所内の広葉樹林から落下直後に採取した堅果 (コナラ 900 個, クヌギ 300 個) を播種した。その後, コンクリートブロックとハウス用鉄パイプで作成した, 空中根切り用架台に積載し, 育成した。2020 年度に播種した広葉樹コンテナ苗 (コナラ 300 本, クヌギ 300 本) については, 無施肥の条件下で, 秋期まで人力によるかん水を適宜行った。なお, 2021 年クヌギ 30 本と, コナラ 280 本を育成, 選抜後, 3 月中旬に, 上記のホンシメジ, コウタケ, バカマツタケの種菌をそれぞれ接種し, 温室内で感染苗を育成した。

3 接種試験

(1) コンテナ接種試験

2019 年 2 月下旬～4 月上旬に, ホンシメジの種菌を, それぞれコナラ 200 本, クヌギ 200 本のコンテナ苗に接種した。接種は, コンテナから苗木を引き抜いた後, 根鉢の細根繁殖部に, 脱脂綿の種菌 (図-2) を貼り付け, コンテナの育成孔に戻して密着させた。接種に際しては, 細根と種菌の菌糸繁殖部の接触に留意した。また, 4 月上旬に, コウタケの種菌を, クヌギ 50 本, バカマツタケの種菌を, クヌギ 50 本に接種した。そして 5 月下旬に, マツタケ種菌をアカマツのコンテナ苗 13 本に接種した。



図-2 種菌の培養状況

(2) セルトレイ接種試験

2021年12月上旬、液体培地を含浸させた綿棒の種菌（マツタケ40本と、脱脂綿種菌（マツタケ24個、ホンシメジ48個、コウタケ18個、バカマツタケ22個）を、セルトレイ（216孔）で育苗したアカマツ苗木に接種し（セルトレイ感染法）、温室内で育成した。その後、6月下旬に感染状況を調べた。

4 広葉樹コンテナ苗の植栽試験

(1) 試験地への植栽

2019年6月下旬、赤磐市暮田地区（赤磐試験地）に、ホンシメジのコンテナ感染苗200本を植栽後、12月下旬に活着状況を観察した。また井原市芳井町西三原地区（井原試験地）に、感染苗200本を植栽した。さらに所内に、コウタケ感染苗6本、バカマツタケ感染苗3本を植栽した（表-1）。

2021年7月初旬～下旬、赤磐試験地に、ホンシメジ菌の感染苗41本を植栽した。さらに、所内の試験地に、感染苗木64本を植栽した。また、井原試験地にも、ホンシメジ感染苗82本を植栽後、2022年3月中旬に、環境整備施業を実施した。

表-1 感染苗の植栽（2019年度）

種名	樹種	本数(本)	植栽年月日	植栽場所
ホンシメジ	コナラ	100	2019/6/25	赤磐市暮田地内
	クヌギ	100	"	"
コナラ	コナラ	100	2019/6/27	井原市西三原地内
	クヌギ	100	"	"
コウタケ	クヌギ	6	2019/7/16	所内
バカマツタケ	クヌギ	3	2019/7/16	所内

(2) 防獣柵の設置

2019年6月初旬、赤磐試験地（面積900m²）に、防獣柵（トーアミ：いのししくん、うりぼう）を設置した。また、同年12月初旬、所内ガラス温室近傍のアカマツ伐採跡地（面積1,030m²）に、防獣柵を据え付けた。

2020年12月初旬、久米南町塩之内地区（久米南試験地）のアカマツ植栽地（面積48.1m²）に、上記と同様に防獣柵を取り付け、獣害の抑制を図った。

III 結果と考察

1. 樹木デンプンの利用

(1) 採取時期別培養試験

アカマツ2年生苗木の根から分離したアカマツデンプンを添加したPs培地によるマツタケ菌の培養は、5月、11月、3月のいずれの採取時期でも、マツタケ菌糸の成長が悪く、コロニーの形成には至らなかった。この原因として、アカマツデンプンに、抗菌作用を持つ化学物質が含まれており、マツタケ菌が生理障害を起こした可能性があった。この結果は、従来の成木由来のデンプンを添加すると、マツタケ菌の菌糸束が形成されることと比較し、菌糸の形態に差異がみられることから、アカマツ苗木の細根では、抗菌成分の除去などの二次加工が必要と考えられた。

(2) フィチン酸添加培養試験

予備試験の結果、培養後の菌糸伸長量は、フィチン酸の添加濃度が、0.5、1.0 mMの試験区で増加し、低濃度のフィチン酸の培地添加が、マツタケ菌糸の成長を促進する可能性が示唆された（図-3）。なお、2.0mM濃度の試験区では、培地の水素イオン濃度が低下し、培地が固化しなかったため、菌糸伸長量の計測は実施していない。次に、フィチン酸を、マツタケ菌糸の培地添加物として利用し、さらに検討した結果を図-4に示す。

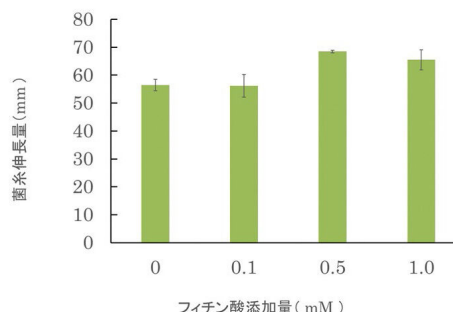


図-3 60日培養後の菌糸伸長量

注 エラーバーは標準偏差を示す

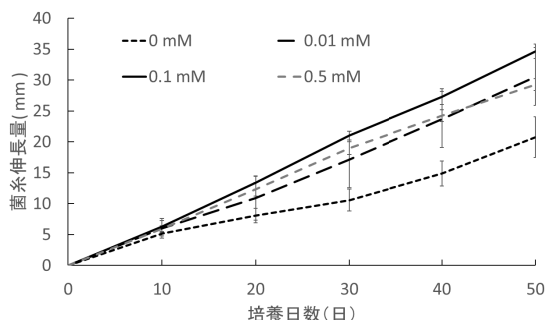


図-4 フィチン酸添加培地における菌糸伸長量

注 エラーバーは、標準偏差を示す

その結果、無添加（0 mM）に比較し、培養開始から20日間に経過する頃から、フィチン酸を、0.01mM、0.1mM、0.5mM添加した試験区で、菌糸の伸長促進効果を示すことが確認された。この結果を踏まえ、培養50日経過後の菌糸伸長量の比較した結果、いずれの添加量でも、有意にマツタケ菌糸が伸長したことが示された（図-5、6）。

次に、糖化酵素の活性を調べた結果を、図-7に示す。いずれの糖化酵素の活性も弱く、特に、 α -アミラーゼ、 α -グルコシダーゼの活性は非常に微弱であった。また、それぞれの酵素活性を、コントロールと0.1mMで比較した結果、有意差はみられなかった。これらのことから、マツタケ菌糸の成長が、糖化酵素の活性に影響を与えた可能性は低いと考えられ、むしろ、フィチン酸の培地添加によって、糖化酵素の無効吸着を抑制された結果、糖化反応に差が生じたものと推測された。フィチン酸は、植物成分として知られる化合物であることから、自然観環境中でマツタケ菌は、アカマツなど宿主の根に感染することによって、成長に必要な栄養の生産効率を向上させている可能性がある。

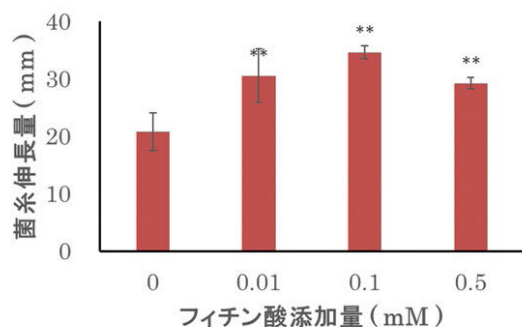


図-5 培養50日経過後の菌糸伸長量
 注1 ** は、1%水準で有意差があることを示す (t検定)
 注2 図中のエラーバーは標準偏差を示す

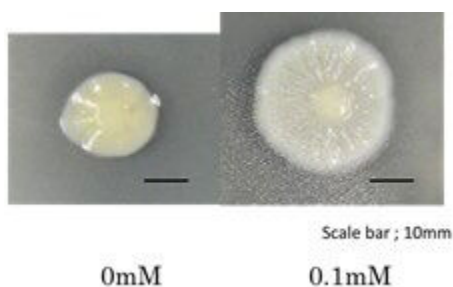


図-6 コロニーの比較（培養50日経過後）

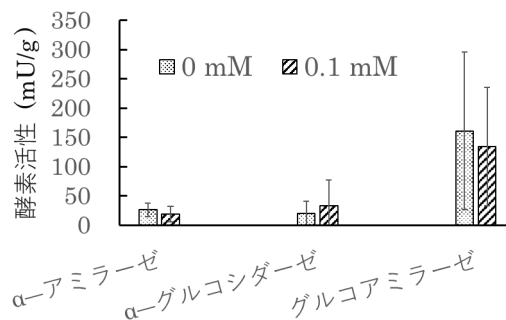


図-7 各糖化酵素の活性
 注1 コロニー1gあたりを示す
 注2 エラーバーは標準偏差を示す

(3) 内樹皮培養試験

予備試験の結果、培養開始から3か月経過後までに、マツタケコロニーから内樹皮への菌糸伸長、感染が確認された（図-8）。また、80%エタノールで洗浄処理した内樹皮を添加した試験区では、培養開始から30~40日後には、コロニーが顕著な菌糸束を形成した（図-9）。一方で、洗浄処理していない試験区では、コロニーの菌糸束は形成されなかった。この特徴は、アカマツ細根粉砕物を添加した時のマツタケコロニーと同様であった。これらのことから、洗浄処理によって、内樹皮に含まれる抗菌成分等が低減され、菌糸成長に影響を与えたものと推測された。アカマツ細根に由来するデンプンのほかに、内樹皮の細胞内にも、デンプン顆粒の蓄積が観察できたことと、加工した内樹皮の培地添加によって、マツタケ菌糸のコロニーに菌糸束が形成されたという結果は、今後、菌床栽培への足掛かりとしてなり得ると考えられた。



図-8 マツタケ菌糸の内樹皮への感染



図-9 マツタケのコロニーと菌糸束の形成

2. 広葉樹コンテナ苗の育成

(1) 界面活性剤の効果検証

コンテナ重量の平均値を、かん水 30 分経過後から経時的に示した(図-10, 11)。S 剤を混合した試験区 (S 区) と、コントロール (C 区) は、かん水 30 分経過後までは、共に 5,500 g 前後 (150%前後) に増加し、48 時間経過後までにやや減少したものの、約 1,800 g (145%前後, 45 g/孔) の水を包含し続けたことになる。この場合、コンテナ重量の 5% 程度の減少しか確認できなかったことから、非常に保水性が高いことが判明した。詳細な比較では、S 区が C 区を常に若干上回り、かつ標準偏差も小さく、安定した値を示した。S 剤の主な役割は、培土への浸透性を均一に保ち、滞水を防止することであり、過剰な水は排水されるが、保水性については、顕著な効果は得られないと考えられた。またコンテナ重量は、120 時間経過後に 1,000 g 弱 (125%前後, 25 g/孔) 減少し、保水性が大きく低下した。

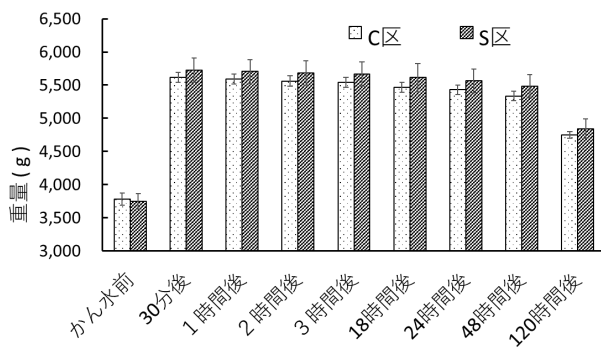


図-10 かん水後のコンテナ重量の変化 (150cc, 重量)

注 図中のエラーバーは標準偏差を示す

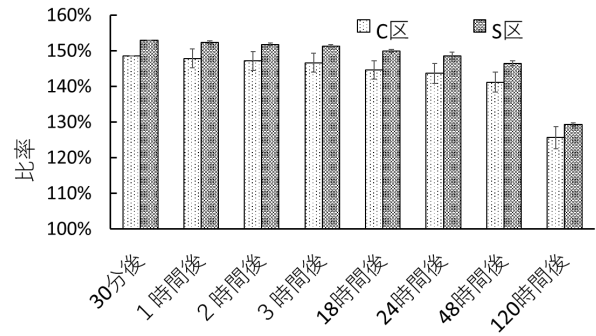


図-11 かん水後のコンテナ重量の変化 (150cc, 比率)

注 図中のエラーバーは標準偏差を示す

なお、初回のかん水後、S 区では、底面からの排水はわずかであったが、C 区では大量の排水が確認された(図-12)、二回目のかん水後も同様であり、S 区の培土は早急に湿潤化した。このことから、概算で、S 区では、150cc/個のかん水量を必要とした結果となった。一方、C 区の培土は、3 回かん水後ようやく湿潤化したことから、C 区では、225cc/個のかん水量を要したことになるため、S 区は、C 区の約 66.7%のかん水量で湿潤化した結果になり、約 33.3%の節水が可能であると考えられた。



図-12 かん水 2 回実施後のコンテナからの排水状況

次に、界面活性剤を用いた発芽試験の結果について、種子の模式図を図-13 に、各コンテナトレイ 3 枚 (3 反復) での結果を図-14, 15 に示す。シラカシの発芽率は、79.2% (平均値) となり、コントロールの 35.8% を優位に上回り、2 倍を超える値を示した。3 枚の合計でも添加区は、80.3% を示し、コントロールの 35.8% と、大きな差があった (2 群の差の検定, 有意水準 1% で, 有意差あり)。発芽の過程は、①種子が十分に吸水する ②胚がジベレリンを合成する ③デンプン分解酵素であるアミラーゼが合成され、それが種子のデンプンに作用することでグルコースなどの糖質が産生され、発芽成長に利用されることにより成立する。そのため、発芽率を向上さ

せるには、種子に十分に吸水させることが必要となる。

今回使用した界面活性剤は、本来、培土中の水分の分散性向上や、適度な保水性を保つ目的で添加されたものだが、その他の効果として、堅果種子の発芽を促進する可能性があることが示唆され、本試験で、界面活性剤を添加した試験区では、界面活性剤の撥水抑制作用によって撥水が抑制された結果、種子内部への吸水が促進され、発芽が促進されたと考えられた。

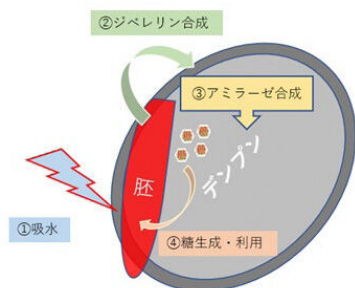


図-13 種子の発芽過程

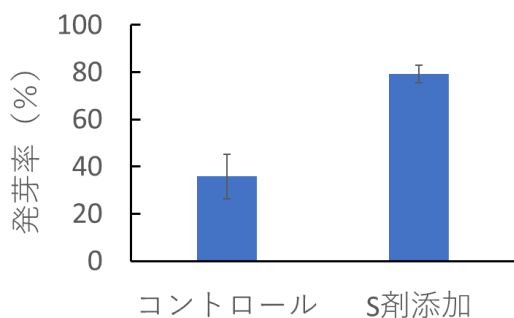


図-14 シラカシの発芽率

注 図中のエラーバーは標準偏差を示す



図-15 界面活性剤の添加効果

注 左側：コントロール 右側：界面活性剤 (S 剤) 添加

(2) コンテナ容量比較試験

S 剤を培土に添加した条件下でのコンテナ重量の比較では、150cc コンテナでは、かん水 24 時間後には約 5,500g (約 150%)、96 時間後には、約 5,000 g (約 140%) を維持することが可能であり、この間の減少割合は 10% 程度と軽微であった (図-16, 17)。390cc コンテナでは、

かん水 24 時間後には約 4,100 g (約 140%)、96 時間後には 3,700g (約 130%) を維持した。150cc コンテナに比較すると、それぞれ 10% 低い値を示した。390cc コンテナは、培土容量は大きい一方で、上部の開口部が大きいいため、培土表面からの蒸散が予想される。このことから、390cc コンテナを利用する場合は、150cc コンテナより早く乾燥する可能性が高いため、やや頻繁な水管理を必要とすると考えられた。

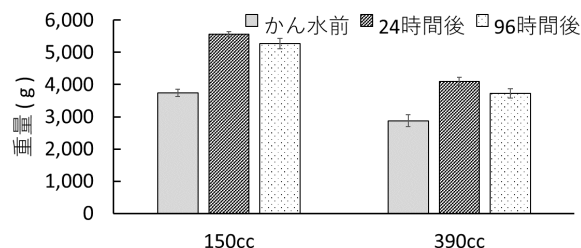


図-16 かん水後のコンテナ重量の変化 (容量別, 重量)

注 図中のエラーバーは標準偏差を示す

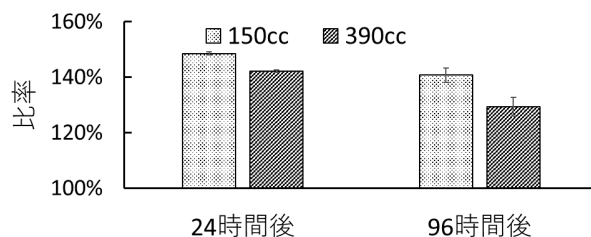


図-17 かん水後のコンテナ重量の変化 (容量別, 比率)

注 図中のエラーバーは標準偏差を示す

(3) コンテナ培土比較試験

390cc コンテナについて、培土の混合割合別のコンテナの重量の変化を、図-18 に示す。かん水前のコンテナの重量は、鹿沼土 3 割+赤玉土 7 割の場合に最も大きく重くなり、逆に、鹿沼土 5 割+赤玉土 5 割の場合に最も小さくなったが、その値は、2,732~2,919g と、約 200g (13.3g/孔) 程度の差であった。また、かん水 24 時間経過後には、3,901~4,125g となり、その差は 224g (14.9g/孔) 程度であった。かん水 96 時間経過後では、3,475~3,747g となり、その差は 272g (18.1g/孔) と徐々に広がった (図-19)。かん水前に比較し、かん水後のコンテナ重量は、24 時間後では、1.41~1.44、96 時間後では、1.23

～1.29 と、いずれも大きな差は無かった。

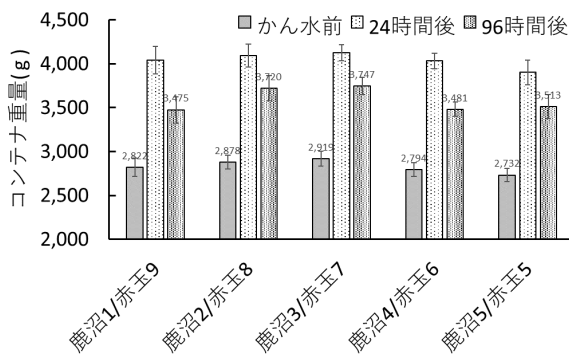


図-18 かん水後のコンテナ重量の変化 (390cc, 重量)
注 図中のエラーバーは標準偏差を示す

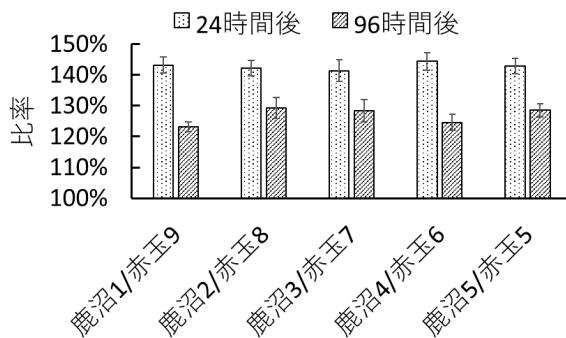


図-19 かん水後のコンテナ重量の変化 (390cc, 比率)
注 図中のエラーバーは標準偏差を示す

(4) コンテナ内部温度抑制試験

白色塗布したコンテナトレイの内壁は、コントロールと比較し、測定開始後3時間は、0.5～3.0℃程度、気温の上昇が抑制されたが、その後、気温ピーク時となった12:45頃には、ほぼ同値となった(図-20)。そのため、最高気温が32℃前後までの範囲に限定した条件下では、気温上昇を抑制する効果が見込めるものの、恒常的な気温上昇抑制効果は期待できないと考えられた。特に、コンテナトレイ育成時に、根系への被害が大きくなる高温時の気温上昇については、顕著な効果は期待できなかった。2回目の試験では、最高気温が36℃に達した後、徐々に下降を始めた後も、コントロールの黒色コンテナ内部の温度は、時間の経過とともに上昇し、最高温度41.7℃に達した(図-21)。この結果は、コンテナトレイや培土に蓄熱性があり、一旦、温度が上昇すると、気温を容易に超えることを示しており、その結果、育成している苗木の根系に、高温障害が及ぶ可能性が高いことを示唆している。その一方で、プラスチックダンボール製の白

板、アルミシートの被覆処理では、35℃以上の温度上昇は抑制することが可能であることが判明した。このうちアルミシートは、顕著な温度抑制効果を示し、コストも7.3円/枚・コンテナと安価なうえ、コンテナトレイへの設置も容易であった。このことから、温度抑制を目的とする反射材としての実用性は高いと考えられた。

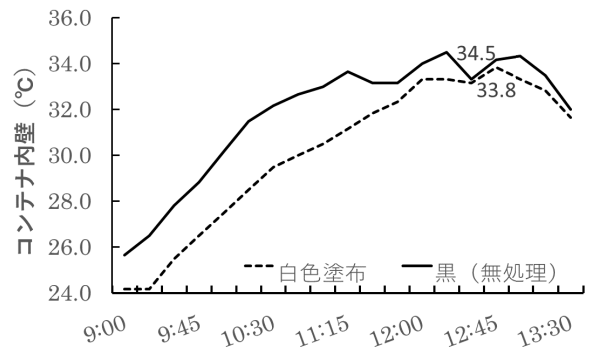


図-20 コンテナトレイ内壁の温度

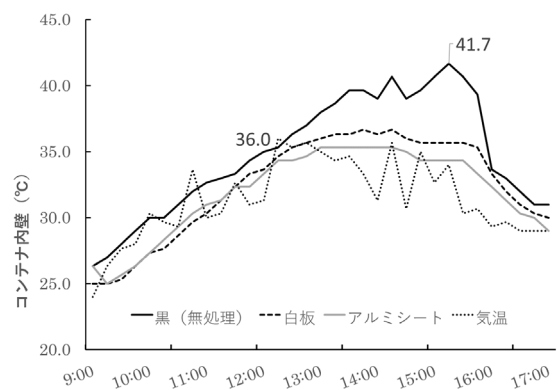


図-21 被覆処理によるコンテナトレイ内部温度の変化

また、今回得られた温度データと気温との相関を取ったグラフでは、コントロールは気温36℃付近で、コンテナトレイの内壁温度が40℃を超える(図-22)のに対し、アルミシートでは、気温とほぼ同じ数値を示している(図-23)。このことは、アルミシートの被覆によって、コンテナトレイの根鉢の温度上昇が4～5℃抑制されることを示しており、直射日光の反射が、温度上昇の抑制に効果的であることを意味している。個々の値を注視すると、特にコントロールでは、気温が32℃付近にある場合でも、コンテナ内壁が40℃を超える場合もあり、直射日光による苗木への悪影響が懸念される。このため、梅雨時期が終了し、気温が上昇する7月中旬から9月初旬頃まで、直射日光を受ける面の対策として、アルミシート被覆等による直射日光の遮断が必要と考えられた。

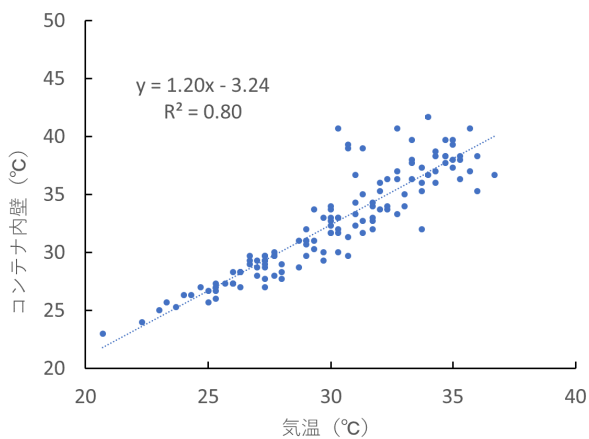


図-22 気温とコンテナ内壁温度の相関 (コントロール)

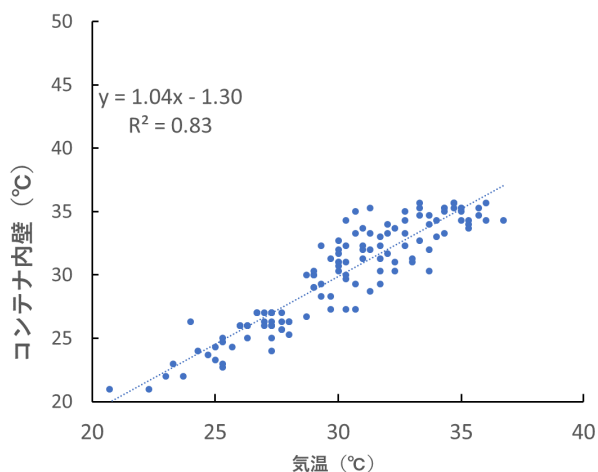


図-23 気温とコンテナ内壁温度の相関 (アルミシート)

(5) 成長抑制試験

2020年の試験では、シラカシ各30本について、樹高の測定結果(平均値)では、BF剤を散布していないコントロール区の成長率が最も高く、1.26倍となった(図-24)。次に、BF剤の500倍希釈区が、1.2倍となった。また、BF剤の250倍希釈区は、1.16倍と最も成長率が小さくなったが、コントロールや500倍希釈区との差は小さく、有意差もなかった(t検定)。250倍希釈区、500倍希釈区ともに若干の伸長は確認されたことから、伸長を完全に抑制するのではなく、伸長の程度をやや抑えることが判った。その他、地際径については、コントロール区が1.23倍、BFの250倍希釈区が1.2倍、0倍希釈区が1.18倍と、樹高と同様の傾向があった。地際径についても有意差は無く、シラカシを使用した今回の抑制試験では、効果が認められなかった。コンテナ苗は、根鉢の大きさ、及び容量が固定

している一方で、地上部の成長が著しい場合、植栽後の成長が低下する場合があります、地上部と地下部のバランスや、樹高のコントロールが課題となる。今回は、成長抑制剤によるコントロールを試みたが、明確な差がみられなかったため、切断処理など、他の方法を検討する必要があると考えられた。

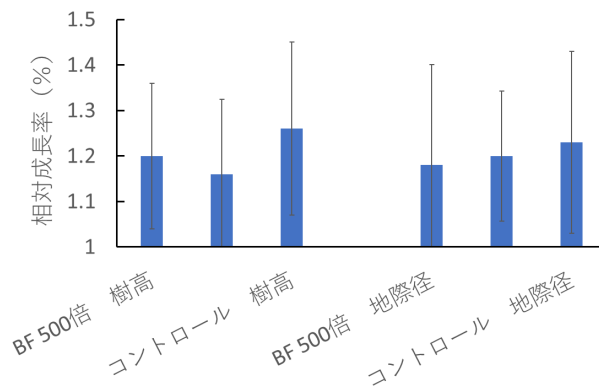


図-24 BF散布後のシラカシコンテナ苗の成長
注 図中のエラーバーは標準偏差を示す

また、2021年の試験では、コナラ樹高の測定結果(成長率の平均値)では、成長抑制剤を散布していないコントロール区の苗木では、相対成長率が11.9%となり、BF散布区の12.3%と、有意な差はみられなかった(t検定、有意差なし)。またクヌギでは、コントロール区の相対成長率は、5.1%となり、BF散布区の相対成長率3.6%と有意な差はみられなかった(t検定、有意差なし)。今回のコンテナ苗は、菌根菌の感染を目的としており、害菌の感染を予防するため、無施肥条件下で育成した。その結果、コナラ、クヌギ、いずれの樹種でも、樹高の成長率は低い値を示し、苗木がほとんど成長しなかった。このことから、無施肥条件下では、成長に必要な栄養源が無いために、伸長成長がほとんど無く、成長抑制剤の効果がみられなかったものと考えられた。

(6) 広葉樹コンテナ苗木育成試験

コナラとクヌギの堅果播種後、2020年12月末までには、それぞれの発根が確認された。今回、落下直後の堅果を採取したため、虫害は確認されなかったが、2021年5月中旬までの育成で、クヌギは根系の壊死により、全数が枯死した。これは、前年度には発生しなかった現象であったが、2021年の2月には、気温が-3℃を下回る日が6日あり、この影響によって、コンテナ内に伸長したクヌギの根系が凍結、壊死したものと考えられた。一方、コナラについては、一部の苗木に壊死が確認されたものの、260本が生存したため、引き続き育成したが、2022年

3月までに、大半が枯死した。これらのことから、コナラやクヌギのコンテナ苗については、冬期間、野外での育成は、枯死の危険性が高いため、温室内で育成するなど、凍結への対策が必須と考えられた。

3 接種試験

(1) コンテナ接種試験

接種試験の結果、150ccコンテナでは、種菌に糸状菌が繁殖し、根鉢表面の細根に感染している状況が観察できた(図-25)。これらの糸状菌は、接種したきのこの菌糸と推測されたため、植栽試験に供試した。また、マツタケ菌の接種では、1本のみ、根鉢表面の細根に、糸状菌の感染が確認され、コンテナ苗を利用したマツタケ菌の感染の可能性が残された(図-26)。そのほかに、390ccコンテナ苗に接種を試みたが、苗木の細根が根鉢表面に伸長しにくく、接種後の感染状況の確認が困難なため、観察による感染の発見頻度を高めるためには、150ccコンテナ苗の利用が適していると考えられた。



図-25 コンテナ苗の接種試験



図-26 アカマツコンテナ苗の根に感染した糸状菌

(2) セルトレイ接種試験

セルトレイで育成したアカマツ苗への接種試験では、綿棒種菌については、いずれの糸状菌の繁殖も認められなかった。しかし、脱脂綿種菌では、ホンシメジを接種

した試験区で、接種した48個のうち6本に、糸状菌の感染が認められた(図-27)。セルトレイは、比較的短期間に、根鉢表面に細根を繁殖可能な育苗資材と考えられ、入手しやすいことから、改良によって感染苗の育成に利用できると考えられた。



図-27 セル苗への感染状況

4 広葉樹コンテナ感染苗の植栽試験

(1) 試験地への植栽

2020年6月下旬に、赤磐試験地を調査したところ、ほぼ全個体が活着していた。その後、8月下旬に調査したところ、ホンシメジのコンテナ感染苗の活着率を調査したところ、クヌギは66%、コナラは72%であった。井原試験地では、広範囲に植栽されているため、各所有者からの聞き取り調査を実施しているが、現在のところ、きのこの発生は確認できていない。

(2) 防獣柵の設置

防獣柵設置後(図-28)、2022年3月下旬までの観察では、赤磐試験地における苗木の被害は、苗木の軸部に途中で枯損している個体が一部に認められた。イノシシやニホンジカ等の侵入は困難なことから、防獣柵の格子状の網目から侵入可能なノウサギ等小型の野生動物による噛み切り被害と考えられた。その他の所内、久米南町にそれぞれ設置した植栽試験地では、苗木の被害は確認されていない。



図-28 設置した防獣柵(久米南町)

IV おわりに

今回、樹木デンプンの安定的な培地利用を目的として、アカマツ苗木の根を材料とするデンプンの利用を試みたが、マツタケ菌の成長は抑制されることが判った。しかし、フィチン酸を低濃度で培地に添加することにより、マツタケの菌糸成長が促進されること、アカマツの内樹皮を粉碎後、アルコール処理することで、細根由来のデンプンと同様に、マツタケ菌糸が菌糸束を形成することが確認された。これらの結果は、新たに培地の添加物として樹木の内樹皮が利用できることを示した。

また、広葉樹コンテナ苗の育成を目標に、界面活性剤の効果、コンテナ容量、培土組成等について、主に、コンテナ重量を指標とした保水性の検証を行ったところ、界面活性剤には弱い保水性向上効果があること、コンテナ容量ごとの保水性、培土の組成別の保水性などが明らかになった。これらの結果から、実際のかん水の頻度について検討すると、5日間隔のかん水は、培土の乾燥を招き、苗木に大きなダメージを与える可能性があるため、今回使用した培土では、2～3日間隔のかん水が望ましいと考えられた。

次に、広葉樹コンテナ苗の育成を目標に、堅果に対する界面活性剤の発芽促進試験、コンテナ内部温度の抑制試験、成長抑制試験および広葉樹コンテナ苗木育成試験を実施した。その結果、シラカシ堅果種子に対し、界面活性剤が顕著に発芽率を向上させる効果を持つことが確認された。このため、従来の播種作業と比べ、不発芽によるコンテナ苗のロスを抑え、管理コストを低減させることに繋がると思われた。そして、コンテナ内部温度の抑制試験では、アルミシートの設置によって、高温期のコンテナ内部の温度上昇を5℃以上抑制できることが可能であることを示した。これまで直射日光にコンテナ側面が晒されることによるコンテナ苗の枯死について、その対策が模索されてきたが、本試験によって高温対策を示すことができたことは、今後のコンテナ苗の生産事業の拡大を進めるうえで、一つの成果と考えられた。また、コンテナ苗の成長抑制技術については、コンテナ感染苗の量産を目標とした育苗技術の一つとして、今回試験したものであるが、顕著な効果を示さなかったため、今後の課題としたい。特に、これまでの広葉樹コンテナ苗育成試験により、コナラやクヌギについては、冬期間の凍結により、根系の壊死が発生しやすい傾向があることが確認されたことから、寒冷な地域では、冬期間の管理に注意を払う必要があると考えられた。

コンテナによって育成された感染苗の林地への活着については、植栽した苗の半数以上が活着したものの、一定の枯死が発生することが判った。

なお、今回、設置した防獣柵については、イノシシやシカの侵入は、苗木への被害は確認されなかったものの、

小動物による噛み切り被害が発生したことから、今後、格子状の網目への侵入防止対策が必要となることが把握できた。

菌根性きのこ感染苗の育成には、従来は、苗木を無菌条件下で育成することに重点が置かれてきたが、自然条件下では他の微生物と競合する中で、宿主樹木への感染がなされている。今回の研究では、殺菌処理を行わない条件の下でも、コンテナなどの容器を利用することにより、比較的容易に感染苗を育成することが可能となることが示された。今後は、植栽後のコンテナ感染苗の活着や、菌根性きのこのシロ形成状況、そして、きのこの発生を促進する技術等が重視されてゆくことが推測され、きのこが発生しやすい環境を、どう維持するかが焦点になると考えられた。

なお、岡山県山林種苗協同組合には、広葉樹苗木の育成に、多大なご協力を賜り、感謝する。

引用文献

- 藤原直哉（2020）マツタケの省力栽培技術の開発. 岡山県森研報 35: 2-5.
- 中谷俊多美ら（1996）清酒醪の並行複発酵に及ぼすフィチン酸及びその関連化合物の影響, 日本醸造協会誌, 91 : 527-532
- 岡山県特用林産流通統計（2020）作目別生産量 : 19pp