

(論 文)

外生菌根菌の接種源作成を目的とした，殺菌剤によるアカマツコンテナ苗の外生菌根除去

成松 眞樹

Development of elimination method of ectomycorrhiza from containerized pine seedling

Maki NARIMATSU

要 旨

食用外生菌根性きのこ類の林地接種に用いる接種源としての苗木育成を目的に，菌根菌類の主要な宿主であるアカマツ (*Pinus densiflora*) を対象として，コンテナ苗の育苗時に形成された外生菌根を除去する技術を開発した。コンテナ苗の根鉢を殺菌剤と展着剤の混合液に浸漬したところ，根鉢からの伸出根には処理の6か月後でもほとんど菌根が見られず，菌根の除去には薬剤浸漬処理が有効であることが明らかになった。今回得られた大型の無菌根苗は，菌根の形成や維持に適していると思われる。

キーワード：食用きのこ，林地接種，苗木，細根，殺菌処理

To obtain non-ectomycorrhiza (ecm) containerized seedling as an inoculum of target ecm fungi for inoculation to forest, elimination method of ecm from fine root of containerized seedling was developed. Root clump of containerized pine seedlings were soaked into mixture liquid containing fungicide and spreader for 24 hour and cultured in green house. After 6 months, only small amount of ecms were observed on elonging roots. The effect was more conspicuously when surface scraping of the root clump was performed with above soaking. Meanwhile, ecms were formed abundantly when only the scraping was performed. These results therefore indicate that soaking into the above agents was effective for elimination of ecm from root of containerized pine seedling.

Key words: edible mushroom, inoculation, seedling, fine root, fungicide

目 次

1 はじめに	1	3 結果	
2 材料と方法		3.1 植栽3か月後の根の伸長と菌根形成	4
2.1 供試苗木	2	3.2 植栽6か月後の根の伸長と菌根形成	4
2.2 菌根除去処理	2	4 考察	5
2.3 植栽	3	5 おわりに	6
2.4 根の伸長と菌根形成の調査	3	謝辞	6
		引用文献	6

1. はじめに

岩手県を含む東北地方では、多様な野生きのこが利用されている(齋藤, 2006)。それらの中でもマツタケ (*Tricholoma matsutake*), ホンシメジ (*Lycophyllum simeji*), アミタケ (*Suillus bovinus*) などの菌根性のきのこ類は市場価値が高い(山田, 2002)。菌根性のきのこ類は樹木と共生するため(Smith and Read, 1997), その多くは施設栽培技術が確立されておらず(Wang and Hall, 2004), 市場への出荷量(生産量)は森林からの発生量に規定される。したがって、増産には新たな発生地確保が必要である。菌根菌は主として胞子で生息地を拡大するが(Nara, 2009), 特にマツタケの場合、コロニーの形成から子実体の発生までは長期間を要する(Narimatsu *et al.*, 2016)。したがって、新たな発生の形成には、あらかじめ目的の菌の外生菌根(以後、菌根と記す)を形成させた苗木(菌根苗)の植栽が有効である。

菌根苗の育成は、密閉容器内で無菌的に行われるが(Yamada *et al.*, 2017), 一般的に得られる苗は小型であるため、森林内に移植した場合には、苗の枯死や菌根の脱落が懸念される(菅原ら, 2012; 鈴木, 2005)。このことから、森林への接種源として菌根苗を育成する場合には、目的の菌の宿主となる植物体として、造林用の苗木(山行苗)と同程度の大きさの個体を用いることが有効と思われる。しかし、従来の山行苗(裸苗)は屋外の苗畑で育成されるため、育苗中に目的外の菌根が形成され(宮崎, 1957), 苗木に形成された菌根は、目的とする菌の菌根形成を阻害する(Iotti *et al.*, 2012)。

近年、林業用マルチキャビティコンテナ(コンテナ)で育成された苗木(コンテナ苗)は、植栽後の活着率が高く(成松ら, 2016), 植栽作業も容易なことなどから、利用量が増大している(林野庁, 2019)。コンテナ苗の育苗は架台上で行われるため、裸苗に比して土への接触機会が少なく、菌根の形成率が低いことが期待できる。また、植栽後の根の伸長量が裸苗より多い点も(成松ら, 2016), 菌根菌を感染させるうえで有利と思われる。実際に、コンテナで発芽させたアカマツの実生にアミタケの子実体懸濁液を散布して、菌根を形成させた例も報告されている(成松, 2013)。一方で、コンテナ苗にも培土や飛来胞子を由来とする菌根が形成されるため(Molina, 1989), コンテナ苗を接種源として用いる際には、接種時点で形成されていた他種の菌根を除去することが望ましいと思われる。そこで本研究では、食用外

生菌根性のきのこ類の主要な宿主であるアカマツ (*Pinus densiflora*) を対象として、コンテナ苗の育苗時に形成された菌根を、殺菌剤で除去する技術を開発した。

2. 材料と方法

2.1 供試苗木

本研究で用いたアカマツコンテナ苗は、吉田樹苗の苗畑(岩手県気仙郡住田町)で、以下の条件により育成された: 2014年4月下旬に種子(岩手県産マツノサイセンチュウ抵抗性品種)を苗床へ播種した。発芽した実生を育成し、2015年4月中旬に300 mLリブ付きマルチキャビティコンテナ(JFA300)へ移植した。培地の基材はココピートオールド、肥料の配合比は基材に対して緩効性肥料(ハイコントロール® 700, N16-P5-K10, ジェイカムアグリ株式会社)0.5%(w/v, 以下同), 速効性肥料(低濃度化成, N8-P8-K8)0.3%, 微量元素(トヨクイーン, 東陽商事株式会社)0.3%である。コンテナ苗は植栽まで屋外の育苗台上で管理した。灌水は降雨日を除いて数日おきに行った。追肥は12月に、化成肥料(オールエイト)を散布した。殺菌剤は6~9月にリゾレックス®水和剤(住友化学株式会社)500倍液とアントラコール®水和剤(バイエル クロップサイエンス株式会社)500倍液を1か月当たり1.5回散布した。上記によって育苗されたコンテナ苗のうち、キャビティ内に形成された根系と培土の集合体(根鉢)の表面に菌根が明瞭に認められるもの(図1)を試験に用いた。

2.2 菌根除去処理

2016年1月に、以下に示す4種類の処理を行った;
①薬剤区: ペンチオピラミド系殺菌剤(アフエツ



図1 供試苗木

根鉢表面の白色個所は菌根から伸びた外生菌糸

ト®フロアブル水和剤, 三井化学アグロ株式会社, 東京)と展着剤(アプローチ® BI, 丸和バイオケミカル株式会社, 東京)を, それぞれ100倍に水道水で希釈し, 希釈液を等量混合したもの(薬剤)に, コンテナ苗の根鉢を24時間, 浸漬した; ②切除区: 根鉢の表面を深さ3mmまでカッターを用いて切削した; ③併用区: 切除区と同様に表面を切削した根鉢を, ①の薬剤に24時間浸漬した; ④無処理区 各処理の反復は5本とした。ただし, 切除区では1本, 無処理区では2本の苗木が枯死したため, 解析から除外した(表)。

2.3 植栽

処理後のコンテナ苗を滅菌土に植栽した。赤玉土(細粒)を, オートクレーブで121℃×40分間, 滅菌した。深さ25cm×幅15cmの高圧法低密度ポリエチレン(LDPE)製の袋を2重にして底に穴を5個開け, 滅菌した赤玉土を充填して, 処理後のコンテナ苗を植栽した。植栽後のビニール袋を, 2個一組でプラスチック製の鉢カバー(7号)に入れ, さらに素焼き鉢(7号)に入れた(図2)。素焼き鉢は使用前に121℃×40分間, オートクレーブで滅菌した。鉢カバーも70%エタノール水溶液で清拭, 消毒した。植栽後の苗木は, 岩手県林業技術センター(岩手県紫波郡矢巾町)構内のガラス温室内の育苗台上で管理した。灌水は夏季を除き2週間に1回, 夏季は1週間に1回, 行った。施肥や投薬は行わなかった。

2.4 根の伸長と菌根形成の調査

植栽3か月後の2016年4月と6か月後の同7月に, 菌根形成と発根を調査した。植栽3か月後の調査で



図2 処理, 移植後のアカマツコンテナ苗(薬剤区)

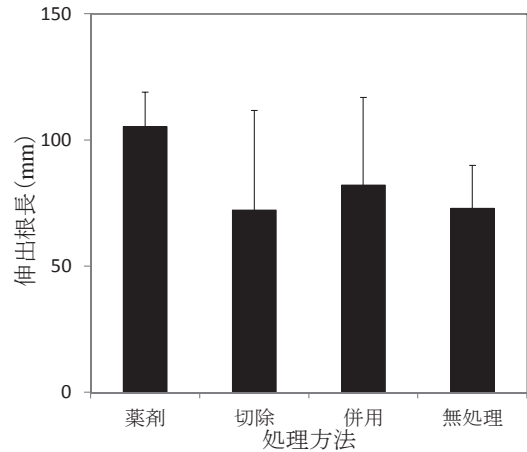


図3 植栽3か月後の伸出根長の処理間での比較

は, 根系表面の土を流水で洗い流した後, 根鉢表面と, 根鉢から伸び出した細根(伸出根)の菌根の有無を, 目視とルーペで観察した。また, 観察後の苗木から5本の伸出根を無作為に採取し, 顕微鏡調査に供した。伸出根を篩上で流水により洗浄し, 長さを測定した後(成松ら2016), 実体顕微鏡の視野下にて, 総根端数, 菌根の根端数を計測した。得られた計測値を5本の伸出根で平均し, 当該苗木の代表値とした。さらに, 菌根の根端数の代表値を総根端数の代表値で除して, 菌根形成率を苗木ごとに算出した。

試料採取後の苗木は, 植栽時と同様の状態に植えなおした。ただし薬剤区は, 1/5000 a (表面積200cm²)のワグネルポットに滅菌赤玉土を充填し, 植栽した。ワグネルポットは供試前に70%エタノール水溶液で清拭, 消毒した。

植栽6か月後に, 樹高を測定し, 伸出根と根鉢の菌根形成状態を目視で調査した。根鉢の菌根形成状

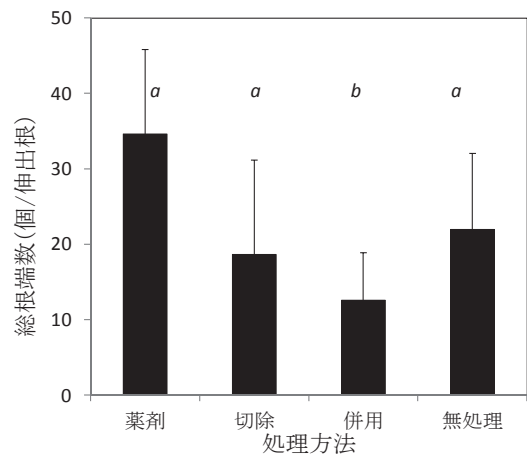


図4 植栽3か月後の総根端数の処理間での比較
アルファベットの違いは処理間の有意差($p < 0.05$, Tukey と Kramer の多重比較)

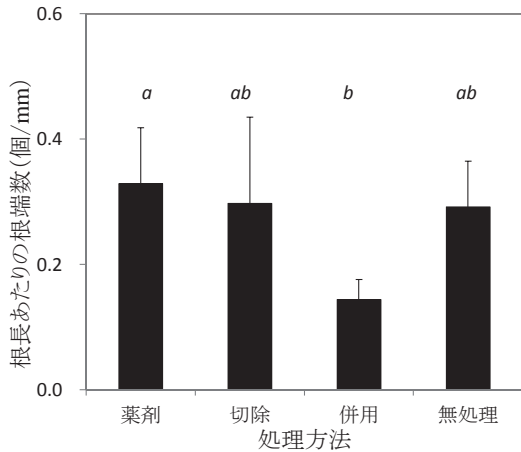


図5 植栽3か月後の根長あたりの根端数
アルファベットの違いは処理間の有意差 ($p < 0.05$, Tukey と Kramer の多重比較)

態は以下の5段階に区分した； -：菌根無し；+：わずかに菌根が形成されている； 1：根鉢表面積の1/8未満に形成されている； 2：同1/4未満に菌根が形成されている； 3：同1/2未満に菌根が形成されている； 4：同3/4未満に菌根が形成されている； 5：同3/4以上に菌根が形成されている。

3. 結果

3.1 植栽3か月後の根の伸長と菌根形成

伸出根長には処理間で差が見られなかった (図3 $p > 0.05$, 分散分析)。一方, 伸出根の根端数 (図4) と, 根長当たりの根端数 (図5) は, 併用区が薬剤区より少なかった ($p < 0.05$, Tukey と Kramer の多重比較)。

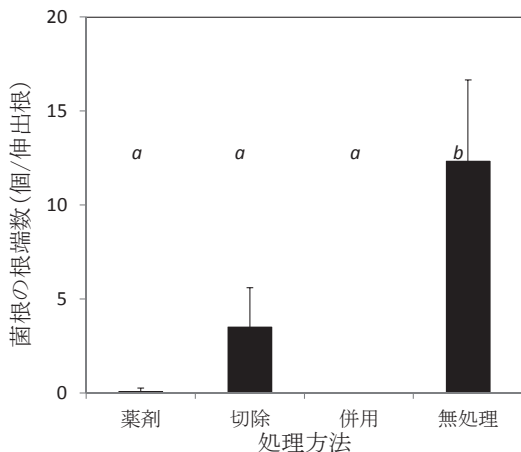


図6 植栽3か月後の菌根の根端数の処理間での比較
アルファベットの違いは処理間の有意差 ($p < 0.05$, Tukey と Kramer の多重比較)

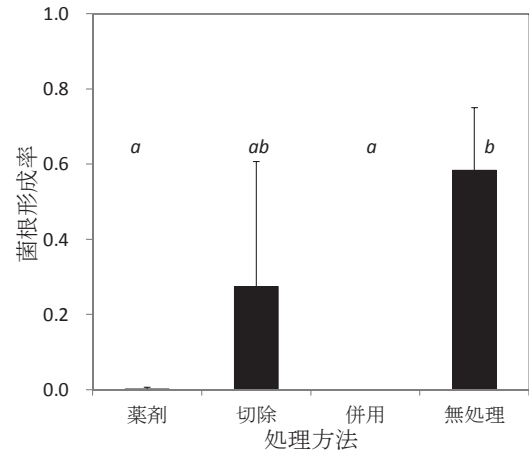


図7 植栽3か月後の菌根形成率の処理間での比較
アルファベットの違いは処理間の有意差 ($p < 0.05$, Tukey と Kramer の多重比較)

菌根の根端数は薬剤処理で減少した。薬剤区の伸出根の菌根根端数は顕著に少なく (図6), 菌根形成率は0.002であった (図7)。一部の根には少量の菌根が見られたが, その生死は不明であった。また, 併用区では菌根が見られなかった (図6)。一方, 切除区では根鉢表面と伸出根に白色で2又分岐の菌根が見られ (図8), 伸出根の菌根形成率は0.275であった (図7)。また, 根鉢表面の土の付着が著しく, 菌根の外生菌糸が土を結着していた (図9)。無処理区の伸出根には菌根の形成が顕著にみられ (図6), 菌根形成率は0.58と最大であった (図7)。また, 切除区と同様に, 根鉢表面の菌糸伸長が顕著だった。

3.2 植栽6か月後の根の伸長と菌根形成

植栽3か月後の調査結果と同様に, 薬剤処理の効果が見られた。薬剤区では供試苗木の5本中1本で菌根がわずかに見られた他は, 菌根が形成されてい

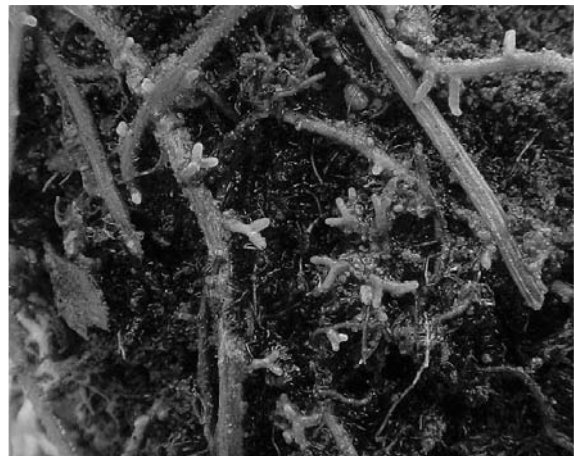


図8 切除区の根鉢に形成された菌根(3か月後)

表 植栽 6 か月後の苗木における処理別の菌根形成区分頻度と樹高

処理	n	区分 ^a							平均樹高(cm) ^b
		-	+	1	2	3	4	5	
薬剤	5	4	1	0	0	0	0	0	48.6±7.1
切除	4	0	0	0	0	0	0	4	37.7±15.2
併用	5	5	0	0	0	0	0	0	40.8±6.6
無処理	3	0	0	0	0	0	0	3	38.6±18.1

a: -:無し; +:わずかに見られる; 1: 根鉢表面の 1/8 未満; 2:1/4 未満; 3:1/2 未満; 4:3/4 未満; 5:3/4 以上
 b: 平均値±標準偏差

なかった(表)。薬剤区は伸出根の成長が旺盛で(図 10)、伸出根は白色部位が長く、根毛が発達していた(図 11)。併用区では、いずれの苗木にも菌根が形成されていなかった。切除区では、4 本すべてで根鉢表面積の 3/4 以上に白色または茶色で 2 又分岐の菌根が形成されており(表)、伸出根の菌根形成も顕著であった(図 12)。無処理区も全 3 本の根鉢表面積の 3/4 以上に白色で 2 又分岐の菌根が形成され(表)、根鉢表面の菌糸伸長や伸出根の菌根形成も顕著であった。

平均樹高は薬剤区が他の処理より 7.8 cm ~ 10.8 cm 高かったが(表)、その差は有意ではなかった($p > 0.05$, 一元配置分散分析)。

4 考察

アカマツのコンテナ苗を対象に、育苗時に形成された外生菌根の除去を目的として、根鉢を殺菌剤と展着剤の混合液に浸漬したところ、根鉢からの伸出根には処理の 6 か月後でもほとんど菌根が見られず、菌根の除去には薬剤浸漬処理が有効であることが明

らかになった。本実験で用いた殺菌剤の主成分はペンチオピラミドであり、その薬効は担子菌類や子囊菌にも及ぶ(柳瀬ら, 2013)。菌根菌は担子菌や子囊菌に属するため(Smith and Read, 1997)、今回の薬剤浸漬処理により、苗畑での育苗中にアカマツの細根に菌根を形成していた菌の密度が低下して、伸出根に対する感染源が減少したために、菌根が形成されなかったと考える。

薬剤区の伸出根では、表皮の褐変が進行していない、白色の部位が顕著に観察された。マツ科樹木の菌根は白色の根に形成されることから(Robertson, 1954)、薬剤浸漬処理で得られた根は、菌根を形成させるのに適していると思われる。また、薬剤区の伸出根は根毛が発達していた。根毛は菌根の形成に伴い減少、消失するため(Smith and Read, 1997)、処理後の細根の伸長開始時点から、菌根が形成されない状態が継続していたと思われる。

薬剤処理の影響は、根の伸長には見られなかった。一方、根端数は併用区が切除区より少なく、かつ切除区の根端数は薬剤区、無処理区と同程度であった



図 9 菌糸による土の決着(切除区、植栽 6 か月後)



図 10 植栽 6 か月後の根鉢と伸出根(薬剤区)



図 11 植栽 6 か月後の伸出根の根毛（薬剤区）

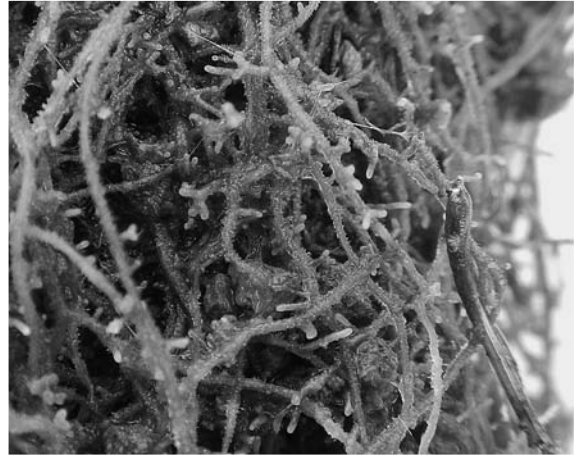


図 12 切除区の根鉢に形成された菌根(6 か月後)

ことから、細根の根端形成に及ぶ薬剤の影響が、根鉢表面の削剥により増大された可能性がある。

伸出根における菌根形成率の低下は、根鉢表面を削剥した切除区でも処理の3か月後に認められたが、切除区では処理の6か月後に菌根形成率が顕著に増大したことから、根鉢の表層直下など、削剥を免れた部分に生残した菌糸が伸出根に菌根を形成したと考える。これらのことから、根鉢表面の削剥のみでは菌根を除去することが困難であり、菌根菌の接種源作成を目的とした育苗における接種前処理には適さないと判断される。

今回の研究により、外生菌根の形成率が低い細根を有する大型のアカマツ苗を、開放環境下で得ることが可能となった。Kawai (1997) は、アカマツの枝から空中取り木法で得た大型の無菌根苗に、ホンシメジの菌根を形成させ、移植後に子実体を発生させた (Kawai, 1997)。また、トリュフ (*Tuber* sp.) の果樹園型人工栽培でも、大型の感染苗が接種源として用いられている (Hall *et al.*, 2007)。以上の知見から、今回得られた大型で菌根の少ないコンテナ苗は、菌根の形成や維持に適していると思われる。

5 おわりに

苗畑での育苗中にアカマツのコンテナ苗の根に形成された外生菌根の除去には、殺菌剤と展着剤への浸漬が有効であった。浸漬による苗木の枯損は見られず、根系の生育も順調であった。今後は、本研究の技術で育苗した大型の無菌根苗に菌根菌を接種して、菌根形成試験を行う予定である。

謝辞

殺菌剤と展着剤を用いた実験方法についてご教示をいただいた、山形県森林研究研修センターの中村人史氏、本研究で用いた苗木を育成された吉田正平氏に、深甚の謝意を表す。

引用文献

- 1) Hall I.R, Brown G.T., Zambonelli, A. (2007) Taming the truffle : the history, lore, and science of the ultimate mushroom. Timber Press, Oregon.
- 2) Iotti M, Piattoni F, Zambonelli A. (2012) Techniques for host plant inoculation with truffles and other edible ectomycorrhizal mushrooms, in: Zambonelli, A, Bonito, G. (Eds.), Edible Ectomycorrhizal Mushrooms. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 145-161.
- 3) Kawai M. (1997) Artificial ectomycorrhiza formation on roots of air-layered *Pinus densiflora* saplings by inoculation with *Lyophyllum shimeji*. Mycologia 89: 228-232.
- 4) 宮崎榊 (1957) 苗木の栄養生理, 苗木育成法. 高陽書院, 東京, p. 25.
- 5) Molina R. (1989) Nursery pests and mycorrhizae, in: The Container Tree Nursery Manual Vol. Five. U. S. department of agriculture, pp. 01-171.
- 6) Nara K. (2009) Spores of ectomycorrhizal fungi: Ecological strategies for germination and dormancy. New Phytol. 181: 245-248.
- 7) 成松眞樹 (2013) マルチキャビティコンテナとアカマツ幼苗を用いたアマタケ菌根苗の育成, 岩手

- 県林業技術センター成果速報：300.
- 8) Narimatsu M, Koiwa T, Sakamoto Y, Natsume S, Kurokochi H, Lian C, Nakajima Y, Nakade K, Yoshida K, Tawaraya K. (2016) Estimation of novel colony establishment and persistence of the ectomycorrhizal basidiomycete *Tricholoma matsutake* in a *Pinus densiflora* forest. *Fungal Ecol.* 24: 35-43.
 - 9) 成松眞樹・八木貴信・野口麻穂子 (2016) カラマツコンテナ苗の植栽時期が植栽後の活着と成長に及ぼす影響. *日本森林学会誌* 98: 167-175.
 - 10) 林野庁 (2019) 第2節 森林整備の動向, 平成30年度森林・林業白書. p. 71.
 - 11) Robertson N.F. (1954) Studies on the mycorrhiza of *Pinus sylvestris*. I. The pattern of development of mycorrhizal roots and its significance for experimental studies. *New Phytol.* 53: 253-283.
 - 12) 齋藤暖生 (2006) 日本におけるきのこ利用とその生態的背景. *バイオストーリー* 6: 106-121.
 - 13) Smith S.E, Read D.J. (1997) *Mycorrhizal symbiosis*, Second. ed. Academic press, London.
 - 14) 菅原冬樹・阿部実・菱川敬太・田中修 (2012) マツタケ栽培技術の開発. *秋田県森技研報* 21: 82-102.
 - 15) 鈴木和夫 (2005) 外生菌根共生系の生理生態とマツタケのパズル. *日本森林学会誌* 87, 90-102.
 - 16) Wang Y, Hall I.R. (2004) Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements. *Can. J. Bot.* 82: 1063-1073.
 - 17) 山田明義 (2002) 日本産菌根性きのこ類の食資源としての利用性. *信州大学農学部紀要* 38: 1-17.
 - 18) Yamada A, Furukawa H, Yamanaka T. (2017) Cultivation of edible ectomycorrhizal mushrooms in Japan. *Rev. Fitotec. Mex.* 40.
 - 19) 柳瀬勇次・勝田裕之・富谷完治・榎本幹・坂本修 (2013) 新規殺菌剤「ペンチオピラド」の研究開発. *日本農薬学会誌* 38: 120-129.