

論文 胞子接種によるクロマツへのショウロ菌感染条件

－マルチキャビティコンテナでの育苗における培地基材の検討－

富川 康之・宮崎 恵子・陶山 大志

島根県中山間地域研究センター研究報告第17号別刷

令和3年10月

孢子接種によるクロマツへのショウロ菌感染条件

—マルチキャビティコンテナでの育苗における培地基材の検討—

富川 康之・宮崎 恵子・陶山 大志

Infection Conditions of *Rhizopogon roseolus* Mycelium to *Pinus thunbergii* with Spore Inoculation
—Examination of Substrate in Culture Medium for Growing Seedlings in Multi Cavity Container—

TOMIKAWA Yasuyuki, MIYAZAKI Keiko and SUYAMA Hiroshi

要 旨

マルチキャビティコンテナを用いたクロマツの育苗において、ショウロ菌の接種による菌根形成と苗高成長に適した培地を検討した。供試培地はココピートオールドに対して鹿沼土と木炭を混合した 12 通りを調製した。接種から 3 か月後までは、鹿沼土の割合が高いほど菌根形成率が高くなる傾向があり、鹿沼土を 50~75%にした培地では 3 か月後の菌根形成率が 70~100%となった。ココピートオールド 25%と鹿沼土 75%を混合した上で、培地全体の 25%または 50%を木炭に替えると、接種の 2 か月後には菌根形成率が 100%となり、菌根形成に要す期間の短縮効果を認めた。また、木炭を使用することで菌根が発達する傾向が観察された。接種から 9 か月後にはココピートオールドのみを使用した培地を除き、その他の培地では菌根形成率が 90~100%となった。一方、鹿沼土や木炭の混合割合を高くするとクロマツの苗高成長が抑制される傾向にあり、これは培地の保水性や保肥性など物理性の低下が原因と考えられた。接種の 9 か月後には菌根形成苗の 36%で根鉢にショウロ菌子実体を認めた。木炭の混合割合が高いほど子実体形成率が低い傾向を認めたが、これはクロマツ苗の樹勢が影響したと考えられた。

キーワード：ショウロ、クロマツ、培地、菌根、苗高

I はじめに

ショウロ (*Rhizopogon roseolus*) は主にクロマツ (*Pinus thunbergii*) やその他のマツ科樹種と共生する外生菌根菌で、子実体に本種特有の芳香を有す食用菌である。本種は安定的な生産が困難であるため高級食材として扱われており (富川, 2010), このため海岸砂丘地での栽培試験, プランターや農地を利用した集約栽培試験, さらに育苗を目的とした研究など様々な取り組みによって栽培化が検討されている (富川, 2006 ; 玉田・更級,

2007 ; 目黒ら, 2019 ; 霜村, 2019)。また、クロマツ苗の活着率向上, 植栽後の成長促進, 耐乾性や耐病性付与などを目的として, 本種と木炭を併用して生物資材とする試みもある (能勢, 1992 ; 村山, 2004 ; 玉田・更級, 2007)。これらの研究に共通する課題は, 本種を宿主へ効率的に接種・感染させる技術の確立とされている (霜村, 2019)。

一方, 造林分野ではスギ (*Cryptomeria japonica*) やヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*) などの苗木生産技術として, マルチキャビティコンテナ (以下

「コンテナ」と略記)を使用する方法が全国的に導入されている。コンテナ育苗による苗木供給量は増えつつあり、最近では効率的な育苗を目指した研究(陶山・富川, 2019)や植栽後の成長についても検証されている(目黒ら, 2019; 酒井ら, 2019)。コンテナ苗は育成管理や植栽作業が簡便であることから、この育苗技術は今後の主要な苗木生産手段として定着すると考えられる。

このような背景から、コンテナ育苗の過程でショウロ菌感染苗を安定的に生産できる条件を明らかにすることは合理的である。そこで本試験ではクロマツ根系へのショウロ孢子接種による菌根形成率と、クロマツの苗高を調査して、育苗条件の一つである培地基材の適性を比較した。培地の基材として鹿沼土と木炭に着目し、コンテナ育苗で一般的に使用されるココピートオールドと混合したものを供試した。なお、本報告の一部は日本きのこ学会第 21 回大会で口頭発表した(宮崎ら, 2017)。

II 試験方法

1. 供試材料

育苗培地としてココピートオールドの 100%使用と、この 25%、50%および 75% (各容積比)を鹿沼土(細粒)に替えて混合した 4 通りの培地を調製した。ついで、国産広葉樹の木炭を破碎して長さ 6 mm, 幅 3 mm程度の粒状木炭を作製し、前述した 4 培地それぞれの 25%、50% (各容積比)を木炭に替えて混合した。いずれの培地へも元肥としてハイコントロール 085-180 (ジェイカムアグリ製)を苗 1 本当たり 2.5 g となるように配合し、これを 1 キャビティが 150 mlのコンテナへ充填した(島根中山間セ, 2018)。なお、各培地の苗数は 50 本とした。クロマツ種子は本県の母樹林で採集・精選された後、冷蔵保管された 1 品種を県森林整備課(緑化センター保管)から譲り受けた。

以下のとおり孢子懸濁液を調製して接種源とした。接種年の春季に、ショウロの育種目的で当センター構内に設けたクロマツ植栽地(富川ら, 2016)で収穫した子実体(出雲系統)を冷蔵保管

した。このうち断面が淡黄色～黄土色の子実体を選抜して(仲野ら, 2016)、約 10 日間冷蔵保管した。接種当日、細断した組織片を乳鉢ですり潰し、水道水で 10 倍(重量比)に希釈した。これを不織布でろ過した後、さらに水道水で約 1,000 倍に希釈して孢子濃度を 1×10^5 個/mlに調製(トーマ血球計数盤)した。

2. 孢子接種と菌根観察・苗高測定

3 月上旬に 1 キャビティへクロマツ種子 3 粒を播種して、当センターのアクリルハウス内へ置いた。稚苗の針葉が外側に向いた時点でキャビティ当たり 1 本に仕立て、その約 10 日後(4 月下旬～5 月上旬、播種の 50～60 日後)に各キャビティへ孢子液 10 mlをピペットで分注した。接種後は屋外に設置したコンテナ台の上で管理した(島根中山間セ, 2018)(写真 1)。

孢子接種の 1 か月後、2 か月後および 3 か月後に各培地の苗 10 本を、また 9 か月後に苗 20 本をコンテナから抜き取って、根鉢を解しながら水洗して培地を除いた。肉眼と実体顕微鏡によって菌根の有無を観察し、同時にクロマツの苗高を測定した。

III 試験結果

孢子接種から 1 か月後はいずれの培地とも菌根を認めなかったが、2 か月後には供試培地によっ

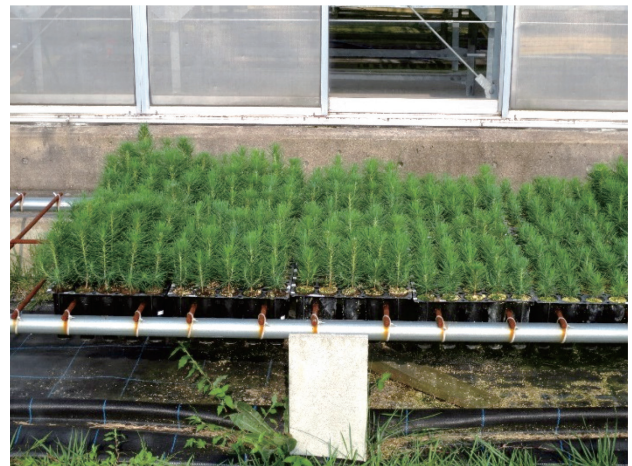


写真 1 クロマツコンテナ苗
(孢子接種の 2 か月後)

ては菌根が確認された。菌根の形態は、白色の菌糸が根を覆い、この菌鞘によって細根の先端が綿棒状に膨らんでいた。これらはY字型や、付け根から2又分岐していることが多く、希に3又分岐を認めた(写真2)。これらの特徴は観察したすべての菌根とも同様であった。ただし、苗によっては厚さの薄い菌鞘が観察されることもあり、これらは菌根が‘未発達’と判別した。細根の先端が分岐していても菌鞘が認められない場合は、菌根とは判断しなかった。



写真2 クロマツの根に形成したシヨウロの菌根 (実体顕微鏡観察)

ココピートオールドへ鹿沼土を混合した培地について、孢子接種から2か月後、3か月後および9か月後の菌根形成率(苗木数率)と苗高を図1に示した。2か月後は鹿沼土の使用割合が25%以下の培地では菌根形成率が0%、鹿沼土を50%以上使用した培地の菌根形成率は未発達な菌根を含めて10~20%であった。3か月後は鹿沼土を50%以上使用した培地の菌根形成率が未発達な菌根を含めて70~100%となった。9か月後は鹿沼土を使用しなかった培地の菌根形成率が未発達な菌根を含めて65%となり、鹿沼土を25%以上使用した培地の菌根形成率が95~100%となった。苗高はいずれの調査時期とも鹿沼土を75%使用した培地が他の培地に比べて低かった。

前述した4培地の25%を木炭に替えた培地について、3回の調査ごとに菌根形成率と苗高を図2に示した。2か月後と3か月後は同じ傾向がみられ、鹿沼土を使用しなかった培地のみ菌根形成率が0%で、鹿沼土の割合が高くなるにしたがって菌根形成率が高くなり、鹿沼土75%使用は菌根形成率が100%となった。9か月後は鹿沼土を使用しなかった培地の菌根形成率が90%となり、この他の培

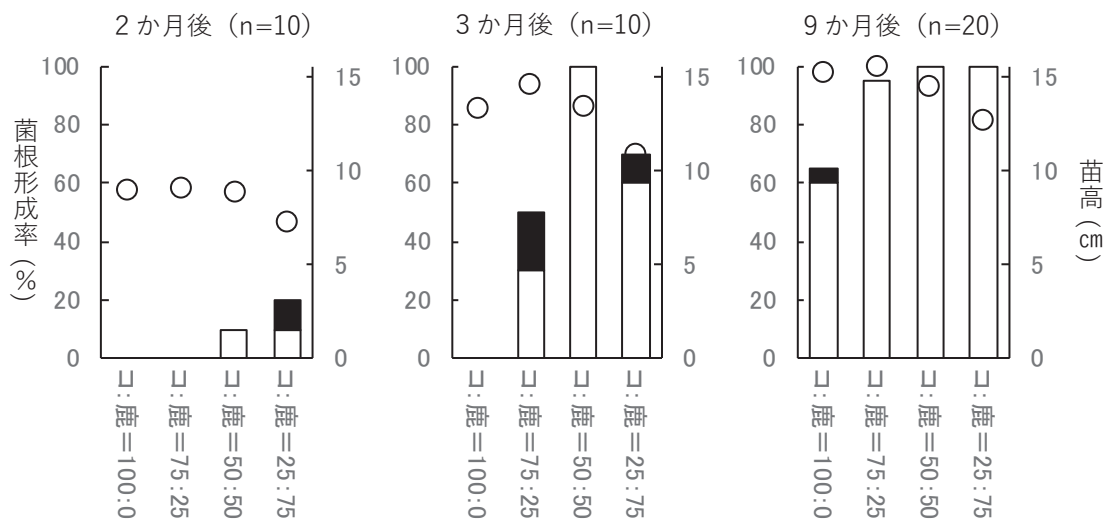


図1 培地基材の混合割合による菌根形成率とクロマツ苗高の接種後の推移

□: 菌根形成, ■: 未発達な菌根, ○: 苗高

Note. コ: ココピートオールド, 鹿: 鹿沼土細粒

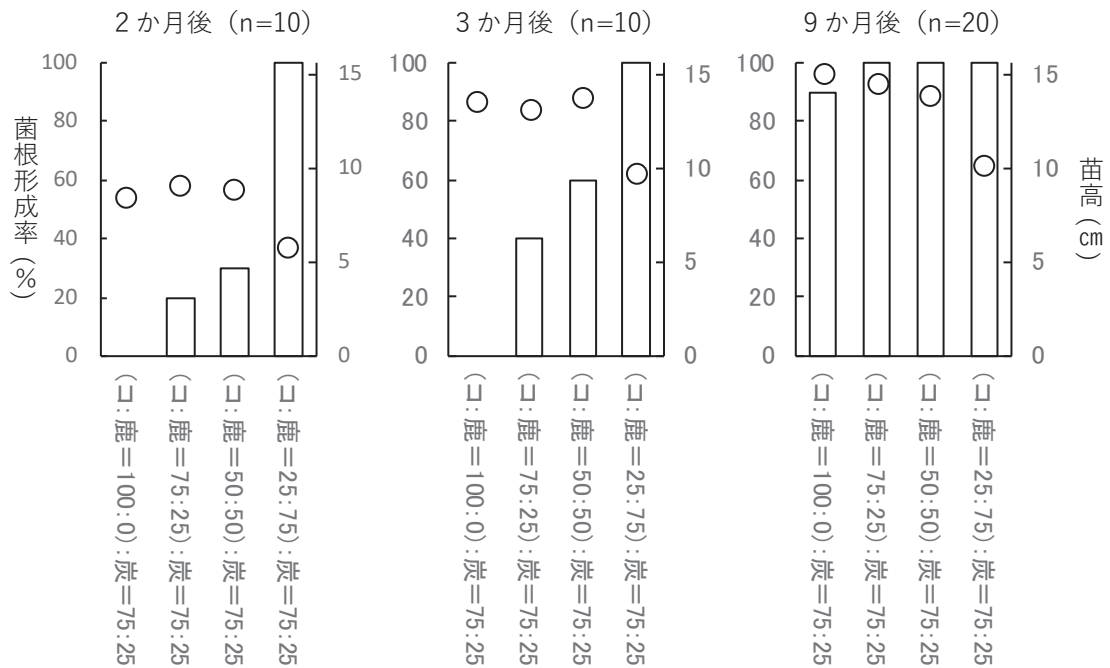


図 2 培地基材の混合割合による菌根形成率とクロマツ苗高の接種後の推移
(粒状木炭を培地全体の25%混合)

□ : 菌根形成, ○ : 苗高

Note. コ : ココピートオールド, 鹿 : 鹿沼土細粒, 炭 : 粒状木炭

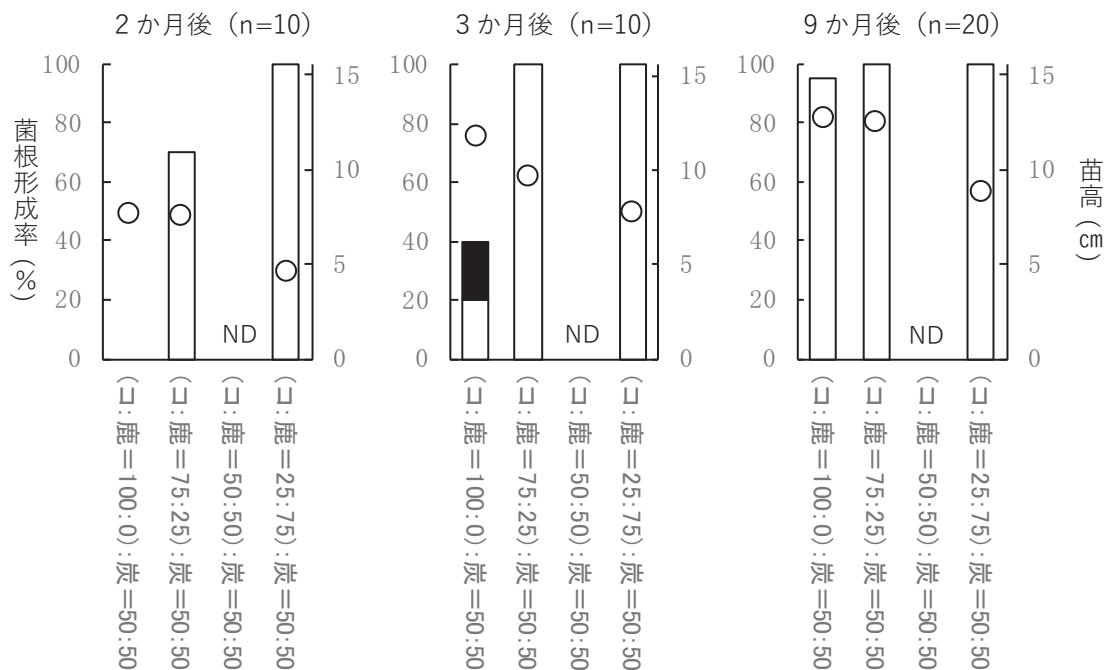


図 3 培地基材の混合割合による菌根形成率とクロマツ苗高の接種後の推移
(粒状木炭を培地全体の50%混合)

□ : 菌根形成, ■ : 未発達な菌根, ○ : 苗高

Note. コ : ココピートオールド, 鹿 : 鹿沼土細粒, 炭 : 粒状木炭, ND : 欠測

地は菌根形成率が100%となった。また、この4培地はいずれの調査時期とも未発達な菌根と判定した苗を認めなかった。苗高はいずれの調査時期とも木炭不使用の培地（図1）と同じ傾向で、鹿沼土75%使用が顕著に低かった。

前述と同様に、木炭の混合割合を50%にした培地について、3回の調査ごとに菌根形成率と苗高を図3に示した。2か月後は鹿沼土を使用しなかった培地の菌根形成率が0%で、鹿沼土75%使用は菌根形成率が100%であった。3か月後は鹿沼土を使用しなかった培地の菌根形成率が未発達な菌根を含めて40%となり、鹿沼土25%使用の菌根形成率は100%となった。9か月後は鹿沼土を使用しなかった培地の菌根形成率が95%となった。苗高はいずれの調査時期とも鹿沼土の混合割合が高いほど低くなる傾向を認めた。また、いずれの調査時期とも木炭不使用と木炭を25%使用した各培地（図1, 図2）に比べて苗高が低かった。

菌根形成苗と未形成苗の苗高を3回の調査時期

ごとに集計して表1に示した。なお、未発達な菌根は菌根形成に含めた。同じ培地、同じ調査時期に菌根形成苗と未形成苗があった場合に苗高を比較したが、菌根形成苗の苗高が高かったのは8調査区、未形成苗が高かったのは6調査区で、どちらかの値が大きくなる傾向はみられなかった。培地ごと、調査時期ごとにみても、菌根形成と苗高との間に関係はみられなかった。

孢子接種から9か月後の調査では、キャビティから抜き取った一部の苗では根鉢の側面や底部、希に地上部にショウロ子実体を認めた（写真3）。なお、子実体の多くはキャビティの内壁と根鉢に挟まれて潰れ、形状は半球形～円盤状であったが、子実体の香りと胞子の形態から本種と同定した。子実体形成した苗のみをみた場合、子実体数は1個/苗が大半を占めたが、最大は3個/苗であった。培地ごとに子実体形成を認めた苗数と子実体形成率（苗本数率）を表2に示した。未発達な菌根を含めた菌根形成苗数に対して各培地の子実体形成

表1 ショウロ胞子の接種による菌根形成の有無と接種後の経過時期別クロマツ苗高

調査時期	2か月後		3か月後		9か月後	
	菌根形成	未形成	形成	未形成	形成	未形成
培地基材 (%)	cm	cm	cm	cm	cm	cm
コ：鹿=100：0		9.0		13.3	15.9	> 14.1
コ：鹿=75：25		9.1	14.2	< 15.1	15.5	< 16.0
コ：鹿=50：50	8.5	< 8.9	13.5		14.5	
コ：鹿=25：75	8.0	> 7.1	11.6	> 9.2	12.7	
(コ：鹿=100：0)：炭=75：25		8.4		13.5	14.9	< 16.2
(コ：鹿=75：25)：炭=75：25	8.7	< 9.1	14.5	> 12.1	14.4	
(コ：鹿=50：50)：炭=75：25	9.5	> 8.5	14.8	> 12.0	13.9	
(コ：鹿=25：75)：炭=75：25	5.7		9.7		10.0	
(コ：鹿=100：0)：炭=50：50		7.7	12.3	> 11.4	12.9	> 10.2
(コ：鹿=75：25)：炭=50：50	7.2	< 8.7	9.7		12.6	
(コ：鹿=50：50)：炭=50：50	—	—	—	—	—	—
(コ：鹿=25：75)：炭=50：50	4.7		7.8		8.9	

Note. コ：ココピートオールド，鹿：鹿沼土細粒，炭：粒状木炭，—：欠測

未発達な菌根は菌根形成に含めて集計

比較した菌根形成苗と未形成苗は1～19本



写真3 クロマツコンテナ苗の根鉢側面に形成したショウロ子実体
(孢子接種の9か月後)

率は約11～58%で、菌根形成苗全体の平均は約36%であった。なお、菌根が未発達と判定した苗は子実体を形成しなかった。木炭の混合割合が高いほど子実体形成率が低率となった。

IV 考察

コンテナ育苗は画一的な管理条件によって均質な苗木が得られることが特徴であり、菌根菌の宿主への感染程度について高い再現性が期待される。そこで、本試験では基本的な育苗条件であり、菌根菌の育成条件としても重要と考えられる培地基材の適性を比較した。本試験では接種源に孢子懸濁液を用いて屋外で管理したが、観察された菌根の形態的特徴はいずれも同様であり、感染苗の約

表2 ショウロ孢子の接種によって子実体を形成したクロマツ苗

培地基材 (%)	菌根形成苗		子実体形成苗 本	子実体形成率* %
	菌根 形成 本	未発達 本		
コ：鹿=100：0	12	1	2	15.4
コ：鹿=75：25	19		11	57.9
コ：鹿=50：50	20		9	45.0
コ：鹿=25：75	20		11	55.0
計	71	1	33	45.8
(コ：鹿=100：0)：炭=75：25	18		2	11.1
(コ：鹿=75：25)：炭=75：25	20		9	45.0
(コ：鹿=50：50)：炭=75：25	20		7	35.0
(コ：鹿=25：75)：炭=75：25	20		8	40.0
計	78		26	33.3
(コ：鹿=100：0)：炭=50：50	19		8	42.1
(コ：鹿=75：25)：炭=50：50	20		4	20.0
(コ：鹿=50：50)：炭=50：50	—	—		
(コ：鹿=25：75)：炭=50：50	20		4	20.0
計	59		16	27.1
合計	208	1	75	35.9

Note. コ：ココピートオールド，鹿：鹿沼土細粒，炭：粒状木炭，—：欠測

*：子実体形成苗数/菌根形成苗数（菌根未発達苗を含む）

観察は孢子接種の9か月後，各培地の供試苗は20本

36%、培地ごとにみた最高は約 58%でショウロ子実体を認めた。このことから、藤原 (2021) で述べられているように、屋外に設置した試験区 (富川, 2006 ; 村山, 2004 ; 玉田・更級, 2007 ; 目黒ら, 2019) において心配される別種の感染ではなく、高い確率で本種の感染と考えられる。接種から 9 か月後には大半の供試培地で菌根形成率が概ね 100%となったが、より早期に、かつ安定的に感染苗を得るには培地基材などについて詳細な検討が必要である。

コンテナ育苗用培土として国内ではココピートオールドが使用されることが多く (島根中山間セ, 2018), 著者らもスギやヒノキにおいてはこの培土を主体とした育苗試験を実施している。しかし、本試験ではココピートオールドのみを使用するとショウロ菌の菌根形成率が著しく低率となった。これに対し、ココピートオールドへ鹿沼土を混合した培地では、鹿沼土の混合割合を高くするほど菌根形成率が高くなる傾向が認められた。また、鹿沼土を使用しない場合でも、ココピートオールドの 25%、または 50%を木炭に替えた培地では、孢子接種から 9 か月後の菌根形成率は未発達な菌根を含めて 90~95%となった。これらの理由は未解明であるが、ショウロ菌の感染条件としてココピートオールドは通気性や透水性が不足していて、空隙率を高くする粒状資材の使用による効果と推察される。他に pH やミネラルの影響も考慮して感染条件を明らかにすることは、最適培地を選択するために必要である。

ショウロ菌のクロマツへの接種試験において、能勢 (1992) は活性炭、村山 (2004) は破碎木炭に本菌を感染させた資材、目黒ら (2019) は粒状木炭を用いて、それぞれ菌根形成が促進されたと報告している。また、玉田・更級 (2007) は接種と同時に粉炭を施用して菌根形成を確認している。本試験では木炭の使用によって、接種から 3 か月後までの期間では、菌根が確認される時期を 1 か月間短縮させる効果を認めた。加えて、菌鞘が発達する傾向があり、菌根の確認が容易であった。このため、木炭を使用した培地のうちで未発達な

菌根と判定したのは図 3 に示した 1 調査区のみであった。木炭を使用するとショウロの菌糸伸長に適した土壌 pH となり、クロマツ細根量の増加が期待されるため (平佐, 1992 ; 能勢, 1992), これらの効果による感染促進が推察される。霜村 (2019) によると根系無菌育成法では接種から約 2 週間で菌根が形成すると述べられているが、本試験結果から屋外でのコンテナ育苗過程で菌根が観察されるまでの期間は、接種後の 1 か月間では不足と考えられる。

鹿沼土の混合割合が高いほど苗高が低くなる傾向があり、鹿沼土を 75%使用した培地は木炭使用の有無に関わらずクロマツの苗高成長が顕著に抑制された。また、培地の 50%を木炭にした各培地は、これ以外の培地に比べて苗高成長が劣った。なお、予備的に本試験と同様な管理条件で鹿沼土 100%の培地で接種試験を実施したが、播種から 9 か月後の苗高は 10 cm未満と低く、供試苗 40 本のうち 4 本が枯死したため本試験の対象から外した。また、既報では粉炭や活性炭の使用によって苗高成長量が小さくなる傾向が示されている (能勢, 1992 ; 村山, 2004)。これらの苗高成長抑制については、空隙率の高い基質を多用したことによる培地含水率の低下、養分保持性能の低下が要因の一つと考えられる。本試験で木炭の混合割合が高いほど子実体形成率が低かったのは、苗の樹勢が弱かったためと推察される。しかしながら、鹿沼土や木炭の混合割合を高くした培地は育苗初期の菌根形成率が高いことから、散水方法や施肥方法を検討して、苗木成長を大きくする育苗条件を明らかにしたい。

能勢 (1992), 村山 (2004) はショウロ接種区、またはショウロと炭化資材を併用した試験区でクロマツの苗高成長が大きくなったと報告しているが、本試験ではショウロ菌の感染によって苗高成長の促進効果は認められなかった。ただし、この関係を明確に述べるには供試苗を多くして、孢子接種をしない対照区を設けるべきであった。また、苗ごとの感染程度も考慮する必要である。

以上の試験結果から、野外でのクロマツコンテ

ナ育苗において、高い確率でショウロ菌を感染させた苗木を生産することができた。このための育苗培地はココピートオールドへ鹿沼土を混合すると効率的であり、さらに木炭を混合することで菌根の確認時期を早めることができた。鹿沼土と木炭の混合割合を高くするほど菌根形成率が高率となったが、これはクロマツ苗の成長にとっては不利な条件であり、散水や施肥の施し方で改善できるか検討を要す。木炭については粉碎が必要なことやコスト面を考慮すると使用しない選択肢もある。例えば、ココピートオールドに対して鹿沼土を25%以上混合した培地で確実に、なるべく早期にショウロ感染苗を作製するための技術が開発できれば実用的である。

クロマツ苗の生産が継続されているほ場では、しばしばショウロ子実体の形成が観察される（富川，2009）。この土壤にはショウロ菌などクロマツを宿主とする菌根菌が息息して、育苗中に自然感染すると考えられる。これにより、気象害や病害を受けにくい苗木の生産が期待されるが、コンテナ育苗では有益な共生菌との感染機会がないため人為的に感染誘導することが望ましい（玉田・更級，2007）。これは子実体生産のみならず、健全なマツ林を造成するためにも必要であろう。目黒ら（2019）によると、ショウロの培養菌糸接種と胞子接種では、クロマツコンテナ苗植栽後の樹高成長へ及ぼす効果に違いが生じており興味深い。本試験では胞子接種による方法で感染苗作製を試みて鹿沼土や木炭の使用効果を明らかにしたが、今後は玉田・更級（2007）目黒ら（2019）、霜村（2019）のように選抜菌株由来の培養菌糸を接種する方法においても安定的に感染苗が得られる技術を検討したい。

V 謝辞

本試験を実施するにあたり、クロマツ種子を提供していただいた島根県森林整備課森林育成・間伐グループ、ならびに林業課緑化センター管理スタッフの担当職員にお礼を申し上げる。

引用文献

- 平佐隆文（1992）粉状木炭の埋め込みによるショウロの増殖試験．島根林技セ研報 43：25-30.
- 藤原直哉（2021）菌根性きのこのコンテナ感染育苗成技術の開発．岡山森林研報 36：1-7.
- 目黒渚・渡邊広大・今埜実希・栗栖敏浩（2019）菌根性きのこの人工栽培に関する研究．宮城林技セ成果報告 28：34-62.
- 宮崎恵子・富川康之・古賀美紗都・陶山大志（2017）クロマツコンテナ苗へのショウロ接種方法の検討．日本きのこ学会第21回大会講演要旨集：63.
- 村山保裕（2004）木炭、外生菌根菌資材施用によるクロマツ苗木の活着と成長．静岡林技セ研報 32：19-24.
- 仲野翔太・高琪・會見忠則・霜村典宏（2016）ショウロ子実体の成熟に伴う胞子発芽能力と胞子壁構造の変動．日本きのこ学会第20回大会講演要旨集：41.
- 能勢育夫（1992）クロマツ稚苗の生長に及ぼすショウロと活性炭の効果．石川林試研報 23：31-34.
- 酒井敦・北原文章・山中啓介・三島貴志・岩田若奈・島田博匡・奥田清貴・中島富太郎・山下由美子・藤井栄・渡辺直史・鷹野孝司（2019）低コスト育林を目指した植栽試験におけるスギ・ヒノキ苗の活着率と初期成長．日林誌 101（2）：94-98.
- 島根県中山間地域研究センター（2018）スギ・ヒノキのコンテナ苗生産の手引き（改訂版）．https://www.pref.shimane.lg.jp/admin/region/kikan/chusankan/shinrin/shcn_kai.data/kontenanaetebiki_kai.pdf（2021.5 ダウンロード）.
- 霜村典宏（2019）外生菌根菌ショウロの人工栽培に関する研究．日本きのこ学会誌 26（4）：148-155.
- 陶山大志・富川康之（2019）界面活性剤を添加した水選によるヒノキ種子の発芽率向上．森林応用研究 28（2）：1-6.
- 玉田克志・更級彰史（2007）ショウロ子実体形成

- 試験及びその菌根合成によるマツ材線虫病発病抑制効果. 東北森林科学会誌 12 (2) : 81-84.
- 富川康之 (2006) 子実体懸濁液散布によるクロマツ苗畑でのショウロ栽培. 島根中山間セ研報 2 : 43-49.
- 富川康之 (2010) ショウロ. (地域食材大百科 4. 農文協編) : 374-376.
- 富川康之・松本晃幸 (2009) クロマツ苗移植によるショウロ発生地拡大と子実体の遺伝的類縁関係. 島根中山間セ研報 5 : 107-113.
- 富川康之・谷浦千恵美・松本晃幸・宮崎恵子・古賀美紗都 (2016) クロマツ植栽地で発生したショウロ子実体間の AFLP 解析に基づく遺伝的類縁関係. 日本きのこ学会第 20 回大会講演要旨集 : 106.