

機関番号：13601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19380085

研究課題名（和文） 食用きのこ類を定着させた菌根苗の効率的な生産技術の開発

研究課題名（英文） Development of production techniques for mycorrhizal seedlings colonized by edible mycorrhizal mushrooms

研究代表者

山田 明義 (YAMADA AKIYOSHI)

信州大学・農学部・准教授

研究者番号：10324237

研究成果の概要（和文）：

ショウロ、アマタケ、クマシメジにおいて、菌根合成法により量産したアカマツ菌根苗を屋外で効率的に養苗する技術を確立した。ツチグリにおいて、菌根合成法及び孢子接種法によりマツ菌根苗の量産技術を確立した。タマゴタケとアンズタケにおいて、培養株の確立に成功するとともに、菌根合成法によりマツ菌根苗の量産技術を新たに確立した。マツタケの菌根合成法において、菌株選抜・共生効果を十分に検証できる実験系を確立した。

研究成果の概要（英文）：

A mass production technique for pine mycorrhizal seedlings colonized by *Rhizopogon rubescens*, *Suillus luteus*, and *Tricholoma terreum* under a green house condition was established. Effective mycorrhization techniques for pine seedlings colonized by *Astraeus hygrometricus* were established. In *Amanita hemibapha* and *Cantharellus cibarius*, an effective in vitro mycorrhization technique was established. In *Tricholoma matsutake*, an effective experimental system was established for the estimation of strain selection and symbiotic effects.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2008年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2009年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2010年度	2,400,000	720,000	3,120,000
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：菌類生態学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：食用きのこ、菌根菌、菌根苗、山林、栽培

1. 研究開始当初の背景

国内での菌根性きのこ類の人工栽培研究では、ホンシメジでビン栽培に成功している。マツタケでは、近年、実験室内下での菌根合成系が作出されたに過ぎず人工栽培にはまだ成功していない。海外では、黒トリュフの菌根苗を用いた実用的なプランテーション造成と子実体生産が知られているが、他の種

では実用技術は開発されていない。また、国内では、林地や苗畑でショウロやイグチ類の孢子散布による菌根苗作成が行われているが、目的の菌種のみが定着した菌根苗を作出するには至らず、更なる研究が不可欠である。

申請者らは、これまで、に種々の菌根性食用きのこ類において菌根苗合成法により菌根苗を作出させることに成功してきたが、そ

れらを継続・発展させるとともに、菌根苗生産効率を更に高める研究が必要であるとの考えに至った。

菌根性きのこ類の人工栽培化では、近年、ニュージーランド、カナダ、スペイン、イタリア、フランス、中国、韓国等でそれぞれ菌根苗作出に関する技術開発が進められているが、国内のフィールドに相応しい菌根苗生産技術を確立することが急務であると考えられる。また、輸入マツタケの残留農薬の問題や、海外での資源枯渇の懸念からも、日本国内での実用的な菌根苗生産技術の確立の必要性が高まっていると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、実用的な人工栽培技術の確立に至っていないマツタケ、ショウロ、イグチ類、キシメジ類、ハツタケ類、ツチグリ、ホウキタケ類、コウタケ類について、菌根合成苗を大量に作出し、ポット順化を経て、苗畑、林地に確実に根づかせる実用技術の開発を行う。

(1) ショウロ、イグチ類、キシメジ類、ハツタケ類では、菌根苗を大量生産し苗畑・林地に移植して、子実体発生の動態を解明する。

(2) マツタケとツチグリでは、菌根苗を野外環境へ順化させ、菌根苗を量産化する技術を確立する。

(3) ホウキタケ類とコウタケ類では、新たな培養株を確立し、菌根合成法を確立し、菌根苗を野外順化する。

3. 研究の方法

(1) 研究室保有の培養株を回復させ実験に供試するとともに、新たに野外で収集した子実体より培養株を確立する。

(2) 培養株を液体培養し、マツ無菌実生とともに菌根合成を行い、菌根苗を作出する。なお、ツチグリについては、成熟子実体内部より無菌的にグレバを摘出して孢子液（接種源）を作製し、菌根合成を行う。

(3) 菌根合成に成功した苗については、培養装置内でのオープンポットによる順化後、温室において鉢苗として養苗するとともにマツ林内にも移植して養苗する。

(4) 順化苗の生育状況、菌根の量的評価を行うとともに、子実体発生の動態について調査する。

4. 研究成果

(1) ①ショウロ、アマタケ、クマシメジで旺盛な菌根発達が見られるマツ菌根苗を夫々80-100本の規模でガラス温室での順化に成功し、その後、同条件下と野外マツ林下に分けてそれぞれ養苗した結果、ガラス温室において有意に良好な苗の生育が見られた（苗高、幹直径、根量、菌根量）。マツ林下

では、日射不足に起因すると推察される苗の枯死を生じ、枯死率は菌種間で異なる事が明らかとなった。調査期間を通じて、子実体発生は確認できなかったが、継続調査により子実体発生が観察されるものと予想された。

表 菌根苗の生残状況

供試菌種 (育苗場所)	苗数(本)		生残率
	供試数	生残数	
(温室)			
ショウロ AT630	19	16	0.84
アマタケ AT605	33	33	1.00
クマシメジ AT710	34	32	0.94
(マツ林林床)			
ショウロ AT630	24	9	0.38
アマタケ AT605	29	18	0.62
クマシメジ AT710	28	20	0.71

②アカハツ、シモコシについては菌根合成と菌根苗の温室順化に成功し、効率的な菌根苗の生産が可能であると考えられた。

(2) ①マツタケでは、長野県産の6菌株より選抜した3菌株で菌根合成を行い、既存株に比べ数倍の菌根量が認められる菌株を確認できた。また、小型ポットの系で土壌水分含量、マツ実生の植え付け時期、菌株と土壌組成の組み合わせの最適化を図る事で、菌根量が大きく異なる事を明らかにした。さらに、長期培養において菌根量増加の制限を回避する目的での有機態窒素添加(1g乾燥酵母/kg土壌)の効果を評価する際には、120日以上培養期間が必要である事を明らかにした。なお、マツタケの菌体量については、リアルタイムPCRで精密な定量が可能なる事を明らかにした。これらにより、今後、菌根苗の順化試験を効率的に推進できると考えられた。

表 マツタケ Tm04 株による合成結果

培養期間(日)	90	117	150	174
葉茎長(mm)	6.5	13	13.8	15.8
幹長(mm)	32	38	34	46
総茎長(mm)	38.5	51	48	62
地上部乾重(g)	0.080	0.180	0.256	0.268
根長(cm)	180	197	295	419
菌根長(cm)	1.01	21.3	71.2	107.7
菌糸感染率(%)	0.75	11.2	23.1	24.6
根乾重(g)	0.05	0.068	0.094	0.148
実生乾重(g)	0.125	0.248	0.349	0.416
S/R比	1.5	2.73	2.85	1.89

②ツチグリでは、培養菌株を用いた菌根合成に成功するとともに、孢子接種法についても成功し、マツ菌根苗を量産化できることを明らかにした。さらに種々の樹木実生との菌根苗を用容易に作出できること、孢子接種では最適な孢子濃度があることを明らかにした。このように菌根苗を幅広く効率的に生産する基盤技術を確立できたため、日本だけでなく、東南アジアのツチグリ類栽培化にも応用できると考えられた。

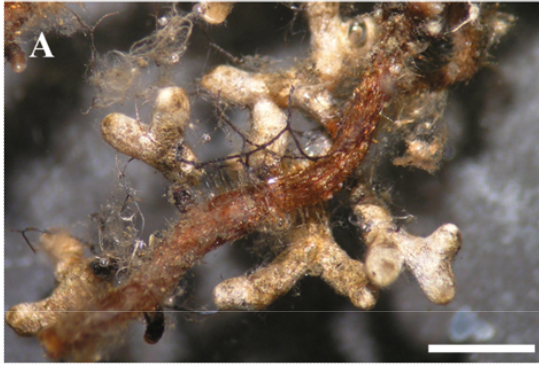


図. アカマツ上に形成されたツチグリの菌根外観



図. コナラ上に形成されたツチグリの菌根外観



図. シラビソ上に形成されたツチグリの菌根外観

(3) ①当初予定していたコウタケ類については、培養株の確立に至らなかった。ホウキ

タケ類については、マツとの菌根合成については成功したが、温室での菌根苗順化において菌の消失が認められた事から、広葉樹を宿主とする実験が不可欠であると考えられた。

②菌根性食用きのことしては市場規模の観点から極めて重要であるが、培養株確立が困難と予想されたため当初研究対象に挙げていなかったタマゴタケ類とアンズタケ類について予備的な試験を行った結果、培養株の確立に成功した。これらを用いてマツとの菌根合成を行った結果、菌根苗を量産化できる事が分かり、ガラス温室での菌根苗順化にも成功した。今後、林地移植などの実用研究を進めることで、世界規模での実用化研究も視野に入ると予想された。



図. タマゴタケ EN-3 株のコロニー

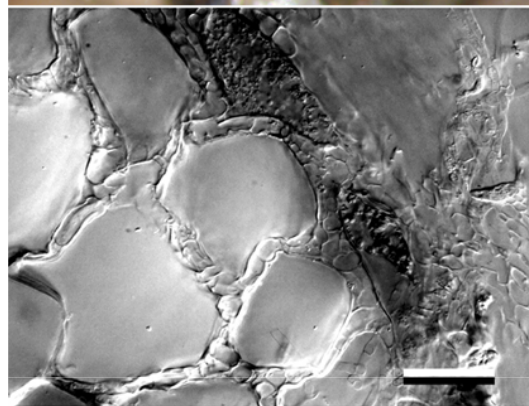
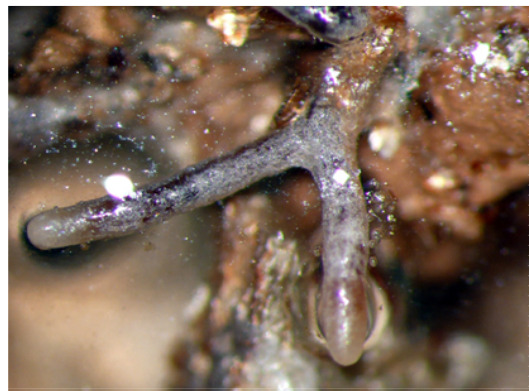


図. タマゴタケ EN-3 株により形成されたマツ上の合成菌根の外観と横断面



図. アンズタケ EN-51 株のコロニー

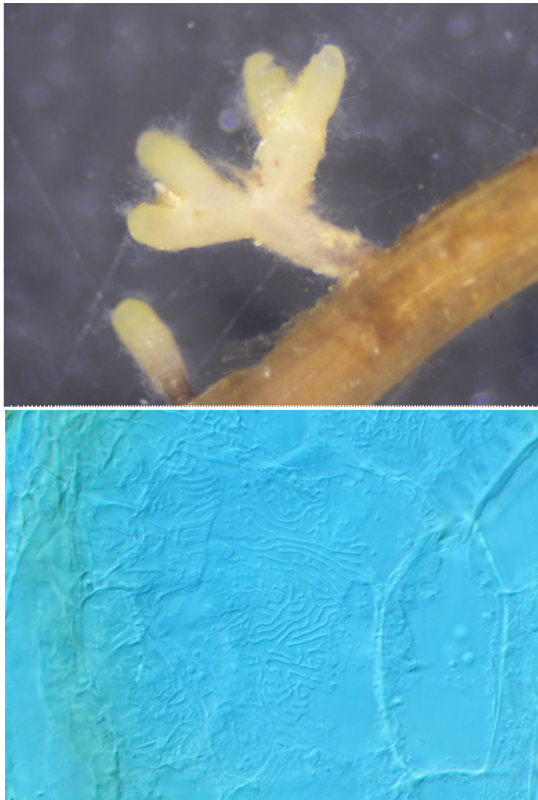


図. アンズタケ EN-51 株により形成されたマツ上の合成菌根の外観と横断面

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 17 件)

- ① Okada K, Okada Y, Yasue K, Fukuda M, Yamada A, Six-year monitoring of pine ectomycorrhizal biomass under a temperate monsoon climate indicates significant annual fluctuations in relation to climatic factors, *Ecol Res* 26: 411-419, 2011, 査読有
- ② Okada K, Satomura T, Kinoshita A, Horikoshi T, Yasue K, Fukuda M, Yamada A. Difference of pine ectomycorrhizal biomass in

relation to forest conditions. *Mycoscience* 52: 59-64, 2011, 査読有

- ③ Fangfuk W, Petchang R, To-anun W, Fukuda M, Yamada A, Identification of Japanese *Astraeus*, based on morphological and phylogenetic analyses, *Mycoscience* 51 291-299, 2010, 査読有
- ④ Fangfuk W, Okada K, Petchang R, To-anun W, Fukuda M, Yamada A, In vitro mycorrhization of edible *Astraeus* mushrooms and their morphological characterization, *Mycoscience* 51 234-241, 2010, 査読有
- ⑤ Yamada A, Kobayashi H, Murata H, Kalmis E, Kalyoncu F, Fukuda M, In vitro ectomycorrhizal specificity between the Asian red pine *Pinus densiflora* and *Tricholoma matsutake* and allied species from worldwide Pinaceae and Fagaceae forests, *Mycorrhiza* 20: 333-339, 2010, 査読有
- ⑥ Masuno K, Ito E, Fukuda M, Yamada A, Hosokawa N, Nishizawa K. Mitochondrial DNA variability in natural population of *Naematoloma sublateritium* in Japan. *Mushroom Science and Biotechnology* 17: 65-69, 2009, 査読有
- ⑦ 山田明義・小林久泰, マツタケ人工栽培の展望, *森林科学* 53: 41-42, 2008, 査読有
- ⑧ Yamada A, Kobayashi H, Ogura T, Fukuda M, Sustainable fruit body formations of edible mycorrhizal *Tricholoma* species for three years in open pot culture with pine seedling host, *Mycoscience* 48: 104-108, 2007, 査読有

[学会発表] (計 14 件)

- ① 山田明義・遠藤直樹, アンズタケ類の菌根合成, 日本森林学会 122 回大会, 2011 年 3 月 27 日
- ② 岡田慶一・山田明義, アカマツ林における外生菌根バイオマスの微小空間分布様式, 日本森林学会 122 回大会, 2011 年 3 月 27 日
- ③ 山田明義・遠藤直樹, タマゴタケ類の菌根合成, 日本森林学会 121 回大会, 2010 年 4 月 3 日
- ④ 岡田慶一・山田明義, アカマツ林における外生菌根バイオマスと気象因子の関係—6 年間継続調査からの考察—日本森林学会 121 回大会, 2010 年 4 月 3 日
- ⑤ Fangfuk W, Yamada A, Identification of Japanese *Astraeus* mushrooms based on the morphological and phylogenetic analyses, Asian Mycological Congress, 2009.11.17, 台湾, 台中市
- ⑥ 佐藤絵美子・山田明義, 菌根性食用きのこ類の菌根苗の野外移植, 日本菌学

- 会 52 回大会, 2008.6.1, 三重県津市
- ⑦ Yamada A, Kobayashi H, Watahiki T, Forefront of cultivation studies of matsutake in Japan, 野生きのこに関する国際会議, 2007.12.13, スペイン, コルドバ市
- ⑧ Fangfuk W, Yamada A, Morphological and molecular comparison of the edible *Astraeus* mushrooms in Thailand and Japan, 2007.12.5, マレーシア, ペナン市

[図書] (計 3 件)

- ① 山田明義, 食品の化学物質危害防止ハンドブック (第 3 章第 6 節, 植物毒, pp209-221, 執筆), サイエンスフォーラム, 298P, 2009

[その他]

ホームページ等

<http://karamatsu.shinshu-u.ac.jp/lab/yamada/index.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 明義 (YAMADA AKIYOSHI)
信州大学・農学部・准教授
研究者番号: 10324237

(2) 研究分担者

福田 正樹 (FUKUDA MASAKI)
信州大学・農学部・教授
研究者番号: 40208963

橋本 靖 (HASHIMOTO YASUSHI)
帯広畜産大学・畜産学部・助教
研究者番号: 40332481

(3) 研究協力者

小林 久泰 (KOBAYASHI HISAYASU)
茨城県林業技術センター・きのこ特産部・主任研究員
研究者番号: なし