

短 報

ナラ枯れ被害木 (コナラ・ミズナラ) を菌床材料とした際の 食用キノコの菌糸伸長に及ぼす影響

上 辻 久 敏

Utilization of *Quercus serrata* and *Quercus crispula* infected with a Japanese oak wilt for Edible mushroom hyphal growth

Hisatoshi Kamitsuji

12 種の食用キノコについて、ナラ枯れ被害木の木粉を菌床材料に利用した場合のキノコ菌糸伸長に及ぼす影響を調査した。コナラではすべてのキノコで健全木よりもナラ枯れ被害木で菌糸伸長が遅かった。ナラ枯れ被害木が菌糸伸長に影響する原因を探索するため、県内で栽培される 5 種のキノコについて、被害木および健全木からの熱水抽出物を添加した寒天培地で菌糸伸長を調査した結果、ブナシメジとナメコでは、木粉での菌糸伸長と同様にナラ枯れ被害木で菌糸伸長が抑制された。ヒラタケとエリンギではコナラで健全木よりナラ枯れ被害木の菌糸伸長が遅かったが、対照との比較から健全木にある菌糸伸長の促進効果がナラ枯れ被害で消失していると考えられた。シイタケでは、木粉での結果と異なり菌糸伸長へのナラ枯れ被害の影響は検出されなかった。これらのことから木粉で認められたナラ枯れ被害木でキノコの菌糸伸長が遅い原因はキノコの種類により異なることが示された。

キーワード : ナラ枯れ被害木, 食用キノコ, 菌糸伸長, *Quercus serrata* (コナラ), *Quercus crispula* (ミズナラ)

I はじめに

国内で栽培されている食用キノコの大部分が、菌床で栽培されている。菌床の基材となる木粉に関して、素材生産量の減少から入手に不安を抱えている地域も存在する (高島 1998)。特に広葉樹では、樹種別の調達や安定供給の面で針葉樹よりも不安定な要素を抱えている。キノコの種類によって基材が限定されるものがあり、ナメコやシイタケでは、栽培に適する木粉が広葉樹のみである。そのため菌床栽培のキノコにとっては、木粉の安定供給と木粉に代わる安価な資材が要望されており、研究機関では様々な検討 (高島 1998, 水谷 2006) が行われている。

現在、ミズナラ (*Quercus crispula*) やコナラ (*Quercus serrata*) などのブナ科の広葉樹が枯れるブナ科樹木萎凋病 (以下「ナラ枯れ」とする) と呼ばれる被害が発生している。広葉樹木粉の調達へ直接的な影響はまだ報告されていないが、今後、調達への影響が懸念される。ナラ枯れは、養菌性キクイムシであるカシノナガキクイムシ (*Platypus quercivorus*) が伝播する病原菌の

Raffaelea quercivora により道管の通水機能を失った樹木が萎凋枯死する現象である。この被害は、1980 年代以降急速に拡大し (伊藤・山田 1998)、2007 年までに岐阜県を含む 23 府県で被害が確認されている (小林・野崎 2009)。主に被害を受けるのはミズナラとコナラであり、コナラよりもミズナラの枯死率が高いことが報告されている (小林ら 2001)。

ナラ枯れ被害木をそのまま放置すると、樹木内部でカシノナガキクイムシが繁殖し、翌年に新たな成虫が飛翔しナラ枯れ被害の感染源となる。そこで、ナラ枯れにより枯れた年に被害木を積極的に活用し、材内で生育する幼虫を殺虫することが、被害拡大の抑制につながると考えられる。キノコの菌床栽培では、木を粉碎した木粉を栽培用の培地に用いるが、ナラ枯れ被害木を菌床材料の木粉へと粉碎することによりカシノナガキクイムシを殺虫することができる。しかし、被害木を使用することによるキノコの品質や収量への影響には不明な点がある。そこでキノコの栽培期間に影響する菌糸伸長速度に着目し、食用キノコの菌糸伸長に対するナラ枯れ被害の影響を明らかにすることを目的

に、培養試験を行った。

II 方法

1. 供試菌

供試菌には市販種菌であるエリンギ（キノックス KX-EG109 号）、ブナシメジ（キノックス KX-BS022 号）、マンネンタケ（キノックス）、ナメコ（KX-N008 号）、マイタケ（キノックス）、ヒマラヤヒラタケ（キノックス）、ヒラタケ（キノックス KX-N008 号）、シイタケ（北研 600 号）、タモギタケ（キノックス）、ヤマブシタケ（キノックス）、アラゲキクラゲ（キノックス）およびウスヒラタケ（森林研究所保存株 PPU）を用いた。

2. 木粉を用いた培地での菌糸伸長試験

試験は、12 種のキノコを対象にコナラとミズナラの健全木と被害木の 4 条件の木粉を用いた培地で行った。木粉の作成にあたり、岐阜県内で 2008 年にナラ枯れにより枯死したミズナラとコナラの被害木と無被害のミズナラとコナラの健全木各 1 本計 4 本を 2009 年 1 月に伐木した。樹皮を除去した後、菌床用木粉製造機で粉碎してできた木粉を 4mm メッシュでふるいにかけ、室内にて乾燥した。木粉に 20 mM コハク酸緩衝液 (pH 4.5) を添加して含水率を 65% に調整し、試験管（直径 24mm × 長さ 200mm）に 25g 充填し、高さを一定にし 121℃ で 60 分間加圧滅菌したものを使用した。その後、供試菌を 14 日間培養したポテトデキストロース寒天 (PDA) 培地を直径 1cm のコルクボーラーで打ち抜いたディスク（以下、単にディスクという）を接種源とし充填した培地の最上面の中心に 1 つ接種した。培養は、温度 21℃、相対湿度 60%、暗黒条件下で行った。菌糸伸長量は、培地最上面から菌糸が伸長している先端までの垂線の長さを試験管の側面から定規で測定した（菌糸伸長量という）。それぞれの供試数は 5 本とし 4 条件の培地のいずれかの菌糸が培地の約半分の高さまで到達した時点ですべての菌糸伸長量を測定した。

3. 熱水抽出物を添加した平板培地での菌糸伸長試験

試験は 12 種のキノコの中から県内で栽培されている 5 種の食用キノコ（ナメコ、ブナシメジ、ヒラタケ、エリンギ、シイタケ）を対象にコナラとミズナラの健全木と被害木の熱水抽出物を添加した平板培地と比較対照として熱水物無添加の平板培地の 5 条件の培地で行った。

熱水抽出は、菌糸伸長試験に用いた 4 種の木粉試料 20g を 100℃ の蒸留水 400 ml により 30 分間抽出した。抽出後ろ過し、木粉を除去した抽出液を 400 ml に定容にし寒天 (Difco) を 8g 添加して培地を直径 9cm のシャーレに分注し作成した。熱水抽出物を添加せず蒸留水に寒天を添加した栄養源を含まない培地を比較対照とした。121℃ で 20 分間加圧滅菌し、滅菌シャーレ（直径 90mm × 高さ 15mm）20 枚に分注した。放冷した培地の中心に、供試菌ディスクを 1 つ接種した。すべての培養は、温度 21℃、相対湿度 60%、暗黒条件下で実施した。5 種の培地の中でいずれかの菌糸が接種位置からシャーレの約半分に到達した時点で、供試菌ディスクの端から菌糸の先端までの直線距離を、シャーレの裏面から定規で測定した。比較対照の培地における菌糸伸長量を 100 とした相対菌糸伸長率を用いて、各培地条件での菌糸伸長量を比較した。比較対照に対する相対伸長率が有意に上回る場合は菌糸伸長の促進、相対伸長率が有意に下回る場合は菌糸伸長の抑制があると判断した。

4. 熱水抽出フェノール類の定量分析

熱水抽出により抽出されたフェノール性物質の量がキノコの菌糸伸長に与える影響を検討するために、木粉試料から抽出されるフェノール性物質の量を測定した。各木粉試料 5 g を精秤し、水 100 ml を加え 300 ml のフラスコ内で 100℃ にて 30 分間抽出した。抽出後、3500 r. p. m. で 15 分間遠心分離を行い、上清をろ過し、ろ液を水で 100 ml に定容し熱水抽出液とした。供試数は各木粉試料 3 とした。

フェノール類の定量はフォリン-デニス法 (Appel et al, 2001) を用いた。96 穴マイクロプレート上で、熱水抽出液 10 μ l とフォリン-デニス試薬 100 μ l を攪拌し、飽和炭酸ナトリウム水溶液 200 μ l を加えた。30 分間室温にて静置後、760 nm における吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。ブランクにはフォリン-デニス試薬の代わりに蒸留水を用い、標準物質としてクロロゲン酸を用いた。フェノール性物質の含有量は、木粉試料の乾燥重量に占める物質の割合で示した。

III 結果と考察

1. 木粉を用いた培地での菌糸伸長試験

12 種の食用キノコの菌糸伸長に関し、コナラとミズナラのナラ枯れ被害木培地と健全木培地を比較すると有意な差が認められた (Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$, 図 - 1)。コナラでは 12 種すべて、ミズナラでは 12 種中

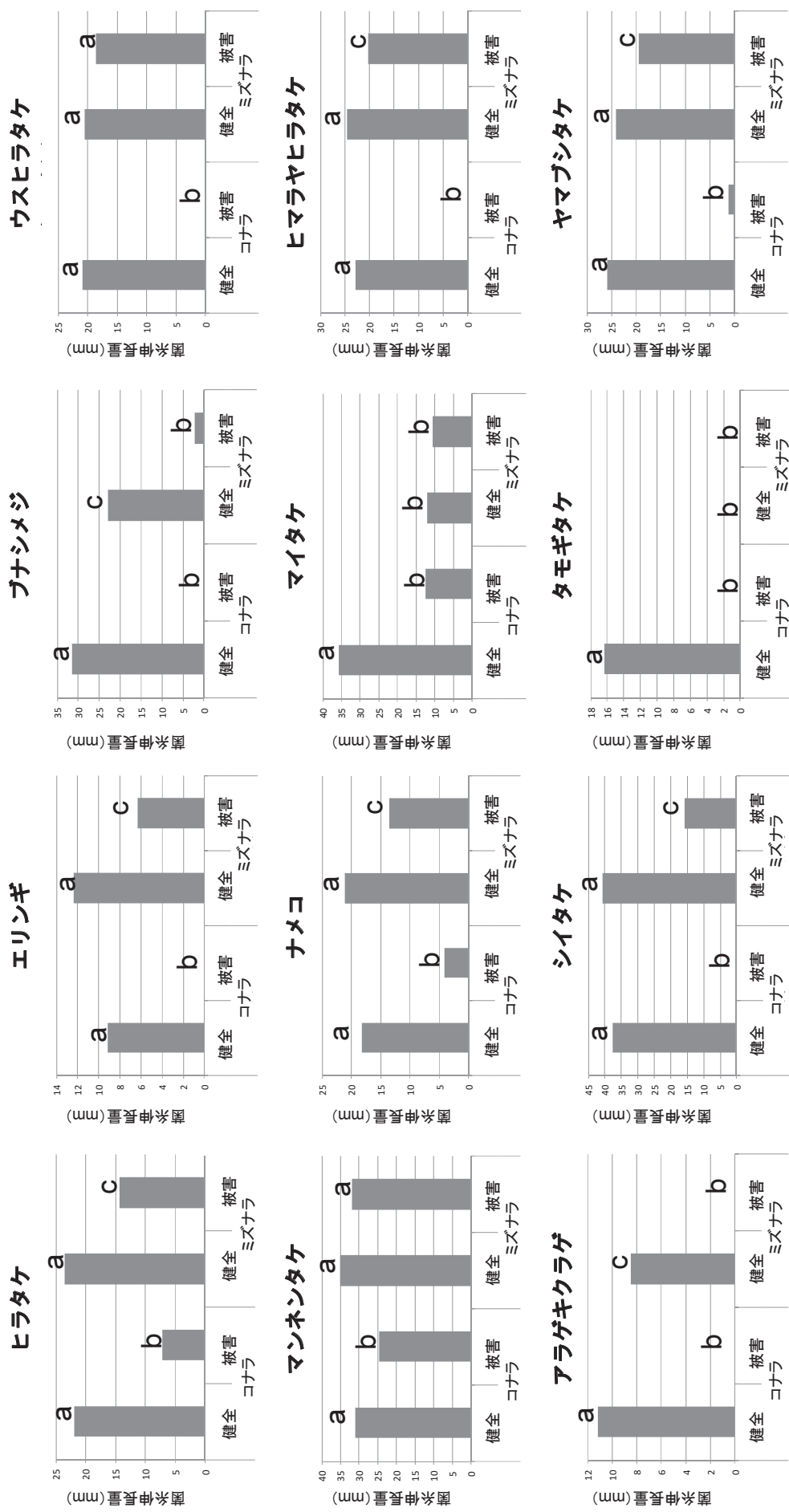


図-1. 菌糸伸長への影響
 ※異なるアルファベット間に有意差あり, Steel-Dwass検定($p < 0.05$)
 健全: ナラ枯れ無被害の健全木, 被害: ナラ枯れ被害枯死木

8種のキノコで健全木よりもナラ枯れ被害木で菌糸の伸長量が遅く、キノコの菌糸伸長にはナラ枯れ被害は負の影響を有していることが分かった。

ナラ枯れ被害木におけるキノコの菌糸伸長への樹種の影響について、樹種間で差がないキノコが4種（ブナシメジ、マイタケ、タモギタケおよびアラゲキクラゲ）で、残りのキノコ8種ではミズナラよりもコナラで菌糸伸長が低い結果であり（Steel-Dwass検定、 $p < 0.05$ 、

図-1）、ミズナラ被害木よりもコナラ被害木で菌糸伸長への影響が大きいと考えられる。

ナラ枯れ被害の有無以外にブナシメジ、マイタケ、タモギタケおよびアラゲキクラゲでは健全木の樹種間で菌糸伸長に有意にミズナラよりコナラの菌糸伸長が早かった（Steel-Dwass検定、 $p < 0.05$ 、図-1）。この4種のキノコに関しては、健全木では、ミズナラよりもコナラで菌糸伸長が早いナラ枯れ被害木となること

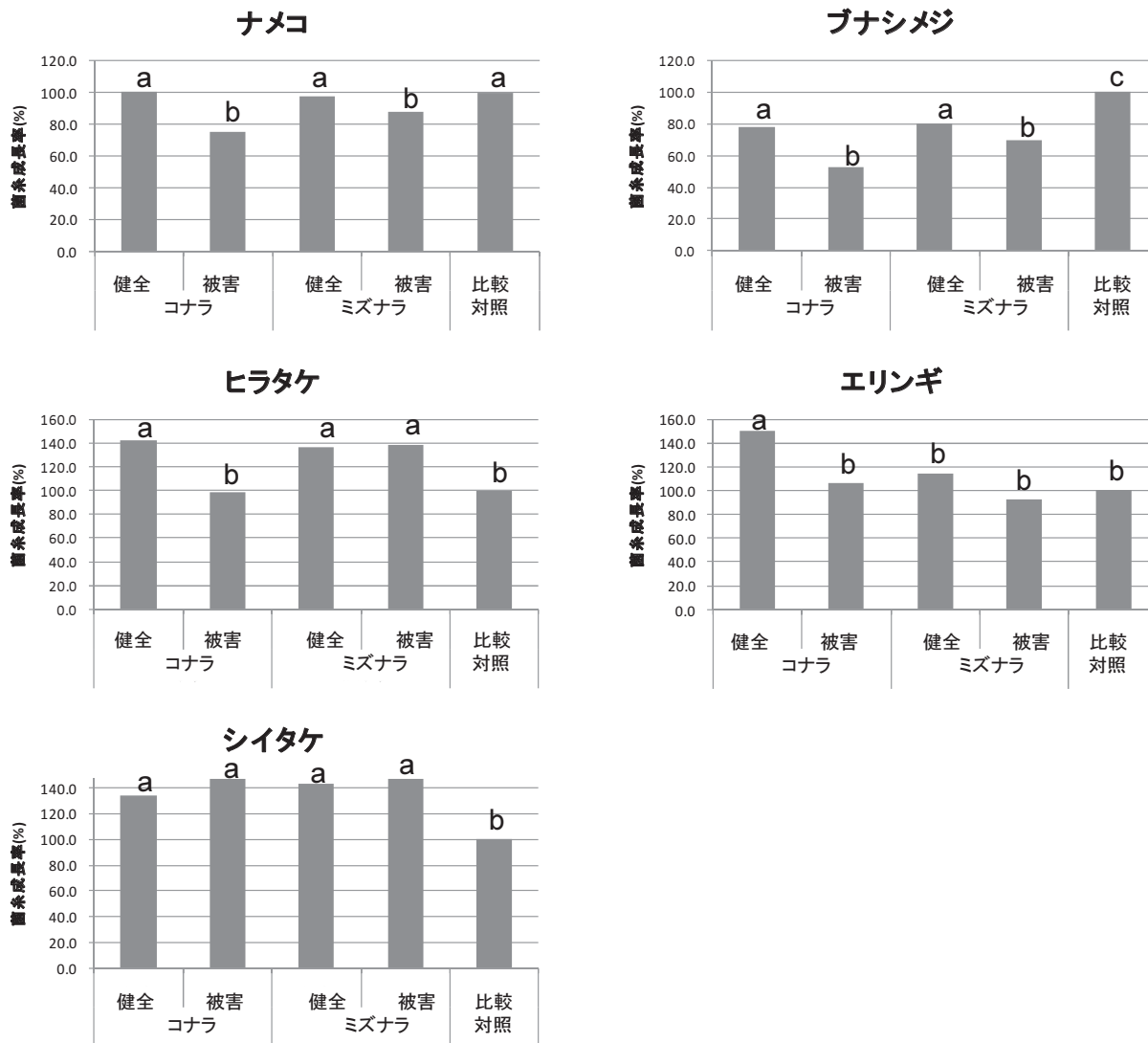


図-2. 熱水抽出物を添加した培地での菌糸伸長への影響

※異なるアルファベット間に有意差あり, Steel-Dwass検定($p < 0.05$)

健全: ナラ枯れ無被害の健全木, 被害: ナラ枯れ被害枯死木

比較対照: 樹木の熱水抽出物無添加の培地

で菌糸伸長への樹種の影響よりも被害木による影響が大きいことから菌糸伸長差が消失したと考えられる。

2. 熱水抽出物を添加した平板培地での菌糸伸長試験

コナラとミズナラのナラ枯れ被害木と健全木の熱水抽出物を添加した培地で菌糸伸長を比較した結果、ナメコとブナシメジでは木粉での菌糸伸長試験(図-1)と同様にナラ枯れ被害木で健全木よりも菌糸の伸長が遅かった(Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$, 図-2)。ナメコでは、健全木よりもナラ枯れ被害木で菌糸伸長が遅く、健全木の培地が熱水抽出物無添加の培地と差がないことから(Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$, 図-2)、ナラ枯れ被害木では菌糸伸長が抑制されていると考えられる。ブナシメジでは、比較対照に対して健全木と被害木すべての熱水抽出物添加培地で菌糸伸長が抑制されておりナラ枯れ被害木が健全木よりも抑制の割合が高かった(Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$, 図-2)。

ヒラタケとエリンギでは、コナラで健全木よりも被害木で菌糸伸長が遅く、ミズナラではナラ枯れ被害の有無で差は認められなかった。ヒラタケとエリンギともにコナラのナラ枯れ被害木と比較対照には差がなく(Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$, 図-2)、健全木で菌糸伸長が促進されていることから(図-2)、コナラ・ミズナラ健全木の熱水抽出物にはヒラタケの菌糸伸長を促進する効果があり、コナラ被害木ではその促進効果が消失していることが分かった。また、エリンギでは、コナラ健全木の熱水抽出物に菌糸伸長を促進効果が認められた(Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$, 図-2)。

シイタケでは、菌糸伸長にナラ枯れ被害の有無による差がなく(Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$, 図-2)熱水抽出物を添加することで比較対照よりも菌糸伸長が促進されていることが分かった。また、木粉培地で認められたコナラのナラ枯れ被害木でシイタケの菌糸伸長が遅い現象(図-1)が熱水抽出物を添加した培地では認められず(図-2)、木粉でシイタケ菌糸伸長が遅くなる原因物質が熱水抽出物中には存在しないことを示唆している。

樹種間による菌糸伸長の差は、健全木ではエリンギのみで認められ、ナラ枯れ被害木ではヒラタケのみで認められた(Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$, 図-2)。本試験では、菌糸の伸長に着目し、対照との菌糸伸長の比較から菌糸伸長の促進または菌糸伸長の抑制と簡易的な評価による解釈を試みたが、菌糸伸長が異なる原因の詳細は菌糸の生育を促進する物質や生育を阻害す

る物質等の菌糸伸長に対し正と負の効果を持つ因子の複雑なバランスの結果として菌糸伸長量が決定されている可能性が高く、また菌の種類によっても異なる複雑な現象であると考えている。

3. 熱水抽出フェノール性物質質量

コナラとミズナラの健全木とナラ枯れ被害木の木粉における熱水抽出フェノール性物質質量の分析を行い、樹種間での熱水で抽出されるフェノール性物質質量には差がなく、ナラ枯れ被害木では、健全木よりも熱水で抽出されるフェノール性物質質量が多いことが分かった(Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$, 図-3)。フェノール性物質の増加がナラ枯れ被害で熱水抽出されやすい形に成分が変化したのかそれとも樹木に含まれるフェノール性物質の含有量がナラ枯れ被害で増加したかについては、本分析だけでは明らかにできなかった。ナラ枯れ被害木の辺材部には変色域が形成されており、この変色形成に由来するフェノール性成分の変化が熱水抽出されるフェノール性物質質量増加の原因と考えられる。

フェノール性物質はエリンギの発生に対し負の影響を及ぼす(木村 1999)とされているが、菌糸伸長の阻害がないミズナラのナラ枯れ被害木でもフェノール性物質質量が増加していることから菌糸の伸長について阻害は認められなかった。熱水に溶出するフェノール性物質質量の増加だけではナラ枯れ被害木でのエリンギの菌糸伸長抑制の原因を説明できない(図-2, 図-3)。フェノール性物質の総量だけでなくどのような構造のフェノール性物質が含まれているのか組成についても今後明らかにする必要がある。

木粉を用いた菌糸伸長試験でナラ枯れ被害木の利用で多くの食用キノコで菌糸伸長の遅れが認められたが(図-1)、ナメコ、ブナシメジではナラ枯れ被害木の熱水抽出物を添加した培地で菌糸伸長の遅れが認められた(図-1)。また、熱水抽出物中のフェノール性物質の含有量はナラ枯れ被害木で高くなった(図-3)ことから、菌糸伸長の抑制に熱水抽出フェノール性物質が関与した可能性が考えられた。また、シイタケでは熱水抽出物の添加で菌糸伸長の差は認められず、木粉での菌糸伸長に影響する因子が熱水抽出物以外に存在すると考えられた。

また、本試験に使用したコナラとミズナラ木粉に栄養材を容積比 10 : 2 の割合で混合した菌床で行った栽培試験(上辻・茂木 2010)では、ナラ枯れ被害の有無による菌糸蔓延日数に差はなかったことから、栄養材

を添加すると菌糸伸長への影響を検出できないことが考えられる。

引用文献

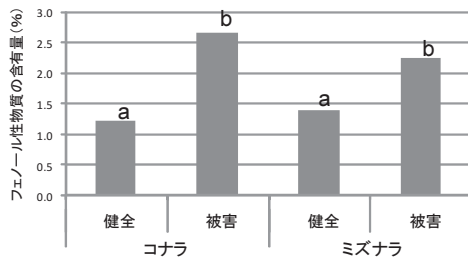


図-3. 熱水で抽出されるフェノール性物質量
 ※異なるアルファベット間に有意差あり, Steel-Dwass検定($p < 0.05$)
 健全:ナラ枯れ無被害の健全木, 被害:ナラ枯れ被害枯死木

Appel HM., Govenor HL., D'Ascenzo M., Siska E., Schultz JC(2001)Limitations Folin assays of foliar phenolics in ecological studies. J. Chem. Ecol. 27:761-778
 伊藤進一郎・山田利博 (1998) ナラ類集団枯損被害の分布と拡大. 日林誌 80 : 170-175

上辻久敏 (2017) ミズナラのナラ枯れ被害木を使用したキノコ菌床栽培. 岐阜県森林研研報 46 : 17-20
 上辻久敏・茂木靖和 (2010) ナラ枯れ被害木を利用した菌床栽培における子実体発生への影響. 岐阜県森林研研報 39 : 23-27
 木村栄一 (1999) 培地調整. (図説基礎からのエリンギ栽培. 木村栄一著, 農村文化社.). 66-99
 小林正秀・萩田実・春日隆史・牧野瀬照久・柴田繁 (2001) ナラ類集団枯損木のビニールシート被覆による防除. 日林誌 83 : 328-333
 小林正秀・野崎愛 (2009) ナラ枯れ被害をどう防ぐのか-被害のメカニズムと防除法-, 17pp 京都府林業試験場 : 6.
 水谷和人 (2006) 木製バット製造工程で生じる廃材を利用した食用キノコ栽培. 岐阜県森林研研報 35 : 5-8
 高島幸司 (1998) オカラを利用したヒラタケ菌床栽培. 日本応用きのこ学会誌 6 : 167-170