

吉野山におけるナラタケ類発生地の土壌と生物防除の検討

棚橋 渉^{*1)}・吉田麻美²⁾・山中勝次³⁾・森本幸裕⁴⁾・今西純一⁴⁾・
小島玉雄⁵⁾・米田 稔¹⁾

- 1) 京都大学工学研究科
2) 株式会社オムロン
3) 京都菌類研究所
4) 京都大学地球環境学堂
5) サン・アクト株式会社

摘要: 吉野山のナラタケ類はサクラ類の衰退の要因の一つと言われている。その分布や発生原因を検討したところ、低い pH 下において良好な菌糸の生長を示すことから、吉野山の一部地域の土壌環境はナラタケ類にとって生育しやすい環境であると考えられた。またナラタケ類の防除実験を行った結果、ナラタケ類は *Trichoderma viride* Pers. ex S.F.Gray によって防除できる可能性が示唆された。

キーワード: サクラ類, ナラタケ類, 吉野, 土壌 pH, トリコデルマ

1. はじめに

奈良県にある吉野山では近年サクラ類の樹勢衰退が報告されている。現在のところ衰退原因の特定には至っておらず、吉野山のサクラ類の衰退原因を検討する必要がある。本研究では、衰退した吉野山のサクラ類の多くが感染しているナラタケ類 (*Armillaria spp.*) に注目した。ナラタケ類発生地域の土壌を採取して土壌化学性の評価を行い、その結果からナラタケ類の発生原因と、ナラタケ (*Armillaria mellea* (Vahl.:Fr.) Karst. subsp. *nipponica* Cha & Igarashi.) とナラタケモドキ (*Armillaria tabescens* (Scop.) Emel.) の 2 種のナラタケ類の棲み分けについての検討を行った。さらにナラタケ類の栄養要求性を把握し、*Trichoderma viride* Pers. ex S.F.Gray を用いたナラタケ類の生物防除の可能性も検討した。

2. 方法

2.1 吉野山のナラタケ類発生地域での土壌化学性の評価

2.1.1 土壌採取地点と採取方法

サンプリングは 2010 年 8 月 17 日 に吉野山の五郎平茶屋で行い、5 地点 (サンプリング No①~⑤) からサンプルを採取

した。表-1 にサンプリング地点の概要を示した。サンプルはナラタケ類が生息する表層からの深さが 10 ~ 20 cm の場所から採取し、ビニール袋に密封して 1 日冷暗所で保存した。持ち帰った土壌は冷凍 (-30 ℃) で保存した。

2.1.2 分析項目及び分析方法

(1) pH (H₂O) と pH (KCl)

風乾細土 10 g をそれぞれ純水 25 mL, 1 MKCl 溶液 25 mL を加えて振とうし、1 時間以上放置したあと、pH メーター (D-13, HORIBA) で測定した。

(2) 陽イオン交換容量 (CEC)

Schollenberger 酢酸アンモニウム変法⁵⁾により測定した。

(3) 交換性陽イオン

Schollenberger 酢酸アンモニウム変法⁵⁾により測定した。

(4) 可給態窒素

風乾細土 10 g に 1/15 mol リン酸緩衝液 (pH7.0) 50 mL を加え、抽出温度 24 ℃で 2 時間連続振とう後、抽出液を 10 倍希釈して 280 nm における吸光度を吸光度計 (UV-1200, SHIMADZU) で測定した。検量線はウシ血清アルブミン (BSA) を用いて作成し、それを窒素量に換算した。

(5) 地温

温度センサー (Decagon Devices Inc, ECHO Temp) を使用して測定した。なお、地温は 2010 年 5 月 2 日に測定した。

表-1 各サンプリング地点の概要

サンプリング No.	特徴	斜面の向き
①	ナラタケ集中分布域	東
②	ナラタケモドキ集中分布域	北
③	ナラタケモドキ集中分布域	北
④	ナラタケ類未確認域	北
⑤	ナラタケ類未確認域	東

* 連絡先著者: E-mail : t.wataru@ax8.ecs.kyoto-u.ac.jp 〒615-8540 京都府京都市西京区京都大学桂 C クラスター

2.1.3 有意差検定

各測定地点間の土壌化学性の平均値の差の統計的有意性を t 検定の結果に Bonferroni の補正を行って確認した。

2.2 ナラタケ類の栄養要求性とその防除方法の検討

2.2.1 土壌微生物共存下におけるナラタケ類生長実験

吉野山のヤマザクラから分離培養したナラタケ類菌糸体を実験に供した。吉野山土壌 1 g に滅菌水 9 mL を加えて混合し、最高速で 3 分間ボルテックスした後、その上澄み液を 1,000 倍希釈し、土壌抽出液を作成した。pH (H₂O) を 2 から 7 に調整したオートクレーブ済みの PDA 培地に土壌溶液を 200 μ L 分注するものとし、しないものを各々用意し、ナラタケ類を植菌した。3 週間後、土壌微生物共存下と非共存下でのナラタケ類の生長に及ぼす pH (H₂O) の影響を判定した。評価方法として、ナラタケは平面培地上で菌糸を伸ばす為、画像解析ソフト imageJ (National Institutes of Health, USA) を用いて最も長いものから 3 本の菌糸を選び、菌糸長を測定した。一方ナラタケモドキは菌糸を伸ばさない為、培養後に培地を加熱溶解し、吸引ろ過を行って洗浄をした後、アルミホイルに菌糸を包み 80 $^{\circ}$ C のオーブン (DX600, yamato) で 3 日間乾燥させた菌糸体重量を測定した。

2.2.2 *T. viride* によるナラタケモドキの防除実験

森林土壌に適用するために様々な菌に対して防除効果が確認されている *Trichoderma spp.* を用いてナラタケ類の防除の可能性を検証した。本章では吉野山より分離しそれを植え継いだ *T. viride* を使用した。培養されたナラタケモドキに *T. viride* を接種するものとし、しないものを用意した。*T. viride* を接種するものは、培地の外側に 3 か所接種し、対峙培養を行った。*T. viride* を接種後、経時的にシャーレ 1 枚分の菌体を回収し、微弱発光計数装置 (浜松ホトニクス, C 9692) でナラタケモドキ菌糸体の現存量を反映すると考えられる発光量を計測した。*T. viride* を接種した菌体の発光カウント値が 30 以下になった時点で計測を終了した。

3. 結果と考察

3.1 吉野山のナラタケ類発生地域での土壌化学性の評価

表-2 に各測定地点間の土壌化学性の平均値の有意差を示し、図-1 から図-5 には各土壌化学性の測定値をグラフで示した。また、表-3 にはそれらの結果から考えられる各測定地点の土壌化学性の傾向を示した。

pH (H₂O) と pH (KCl) の測定値を図-1 に示す。地点②に関しては測定値が他の地点に比べ幾分低く、有意差もいくつかの地点間で見られたが、これは地点②が昔多くのゴミが捨てられていた場所であり、人為的攪乱が生じたからだと考えられる。地点①や③が他の地点と有意な差を生じなかったことから、本測定結果からは pH がナラタケ類の発生やナラタケ類の棲み分けに影響していると確認することはできなかった。また、山地の森林土壌の表層では、超塩基性岩など特殊な地質である場合を除き、多くは pH (H₂O) 4.0 ~ 5.5 で

表-2 各測定地点の比較における有意差検定結果

有意水準は◎は 5 %, ○は 10 %, ボンフェローニ補正有

	① ②	① ③	① ④	① ⑤	② ③	② ④	② ⑤	③ ④	③ ⑤	④ ⑤
pH(H ₂ O)	◎	×	×	×	◎	×	◎	×	×	×
pH(KCl)	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×
CEC	○	◎	○	×	×	×	×	×	×	×
交換性陽イオン	◎	×	×	×	×	×	○	×	×	×
可給態窒素	○	◎	×	×	×	×	×	×	×	×
地温	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	×	×	◎

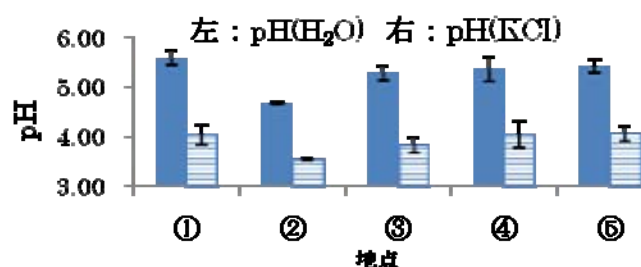


図-1 サンプリング毎の pH 値 (平均±SD, 各地点にて n=5)

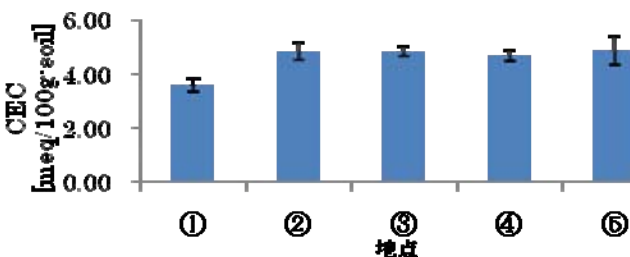


図-2 サンプリング毎の CEC 値 (平均±SD, 各地点にて n=5)

あり ③, 調査地点から考えられる吉野山の土壌 pH は極端に低いわけではないと思われる。

陽イオン交換容量 (CEC) の測定値を図-2 に示す。地点①のみ値が低く、加えて表-2 より地点②あるいは③とそれぞれ 10 %, 5 % の有意水準で差が見られたことから、CEC はナラタケとナラタケモドキの棲み分けに影響している可能性があると考えられる。また、1997 年に環境庁が行った調査では、吉野山付近にある奈良県毛敷群の褐色森林土の CEC は 19.2 (meq / 100 g 供試土壌) であり 4), 測定結果の CEC はその約 3 分の 1 であることから、各調査地点における土壌は養分保持力が低い土壌であると思われる。

交換性陽イオンの測定値を図-3 に、可給態窒素の測定値を図-4 に示した。これらの測定結果のうち、地点②の値のみが他の地点と大きく異なるのは先に述べた理由からだとと思われる。また、表-2 より可給態窒素の項目で地点①と、②, あるいは③の間でそれぞれ 10 %, 5 % の有意水準で差が見られたことより、可給態窒素がナラタケ類の棲み分けに影響している

可能性があると考えられる。

地温の測定値を図-5に示す。この測定結果では東側斜面の地点①と⑤の値が高いこととなった。表-2から地温はナラタケ類の発生及びナラタケ類の棲み分けの両方に影響しているとも考えられる。ただし地温については時間変化が大きく影響するので、より長期間についての傾向を観測した場合は図-6の様になった。図-6からは、ナラタケモドキが分布していた北斜面は10月になると東斜面より地温が高くなることを見て取れる。ナラタケの至適温度が25℃²⁾、ナラタケモドキの至適温度が約28℃⁶⁾であるという報告もあり、この結果からも吉野山において斜面毎に地温差がある為にナラタケ類の棲み分けが起きた可能性も考えられる。

以上の結果を纏めた表-3からは、ナラタケ類の繁殖とはっきりとした関係をもっている土壌化学性の項目を、ナラタケ分布地域と低CEC地点が一致していることを除いて見出すことはできなかった。また、CECが低いことは栄養塩の保持

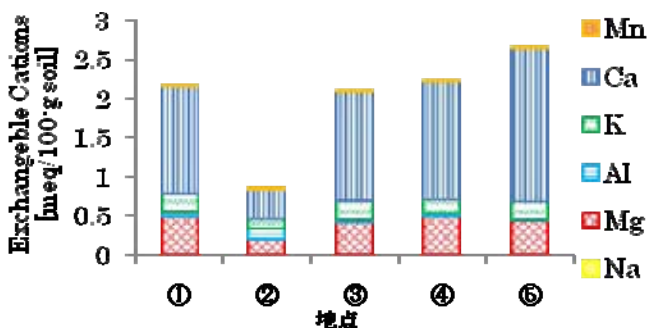


図-3 交換性陽イオン量とその組成

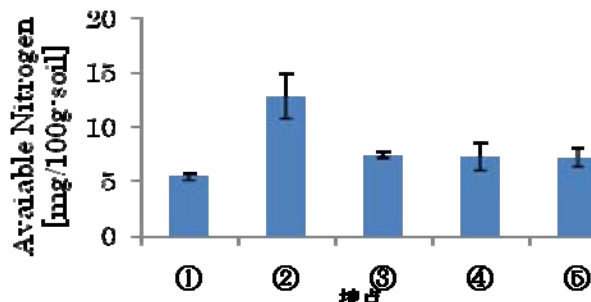


図-4 サンプル毎の可給態窒素測定値
(平均±SD, 各地点にてn=5)

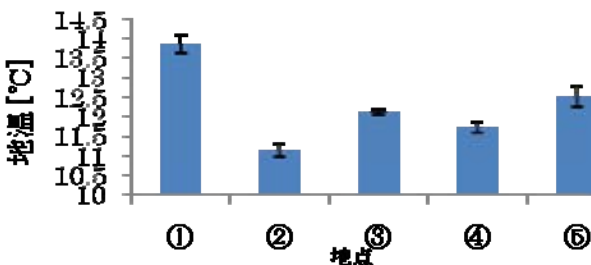


図-5 サンプル毎の地温測定値
(平均±SD, 各地点にてn=5)

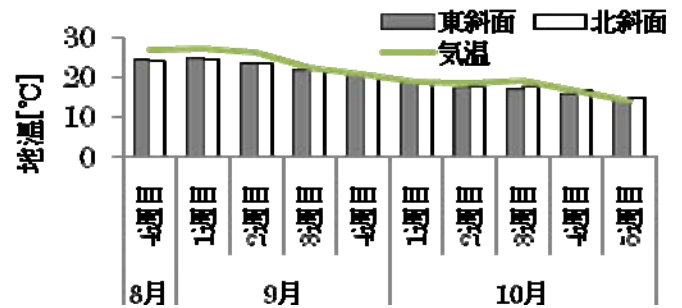


図-6 吉野山での地温モニタリングの測定値

表-3 測定結果から推察される各地点での土壌化学性の傾向

	①	②	③	④	⑤
pH(H ₂ O)		低い			
pH(KCl)		低い			
CEC	低い				
交換性陽イオン		低い Ca 少			
可給態窒素		高い NO ₃ 多			
地温	特に 高い	低い	高い～や や低い	やや 低い	高い

量などに関係するが、交換性陽イオン量や可給態窒素量などに反映されていないことから、直接的にCECがナラタケの繁殖に影響したことは考えにくい。従って、今回の調査結果ではナラタケ類の繁殖に影響している土壌化学性をはっきり特定することはできず、ナラタケ類の分布には他の因子も影響している可能性が高いと考えられる。

3.2 ナラタケ類の栄養要求性とその防除方法

3.2.1 土壌微生物共存下におけるナラタケ類生長実験

以下pH(H₂O)をpHと表す。図-7の結果からナラタケはpH4やpH5で成長が活発であり、図-8の結果からナラタケモドキはpH5で最も生長することが明らかになった。また、土壌微生物共存下ではともにpH4以外では殆ど菌糸体生長が見られず、pH4のみ写真-1の様に顕著に見られたことから、土壌微生物はナラタケ類の生長に影響することも示唆された。ナラタケ類を純粋培養した場合、最も生長速度が大きいのはpH6から7であるという報告もあり⁷⁾、吉野山に生息しているナラタケ類は吉野山のやや酸性環境に適応し、至適pHがやや酸性よりに変化していると考えられる。また、土壌微生物は強酸下では活動が抑えられる¹⁾ことから酸性条件下ではナラタケ類は生長しやすいものと考えられる。なお、吉野山のサンプリング地点にて測定されたpHは地点②以外はpH5.0付近と、比較的差が小さかった為に、今回の生長実験で示された様ははっきりとした違いが表れなかったと考えられる。

3.2.2 *T. viride* によるナラタケモドキの防除実験

結果を図-9 に示した。ナラタケモドキ菌糸体の発光量は、*T. viride* との対峙培養後急激に減少し、接種から 70・80 時間後には 50 counts / sec 前後になった。*T. viride* を接種しないコントロール区では 125 時間経過しても強い発光量を維持した。発光量の減衰は *T. viride* が生産する菌体外酵素によるナラタケモドキ菌糸体の分解を示す。*T. viride* による菌糸体の分解におよぼす pH によって大きな差は生じなかった。ナラタケ類の恒常的な発生地での防除として、土壤殺菌や大規模な土壤改良によることなく、*T. viride* 分生子懸濁液の土壤施用などの生物防除によってナラタケ類の菌糸体現存量を低減する可能性が示唆された。

4. まとめ

本研究における吉野山でのフィールド調査の結果からは、ナラタケ類の繁殖や棲み分けへの土壤化学性の影響をはっきりと見出すことはできなかった。しかし、栄養要求性の実験から低い pH はナラタケ類の繁殖に影響することが考えられ、ナラタケモドキの繁殖地域の一つが実際に低 pH 値であったことから吉野山の土壤環境がナラタケ類の成長に

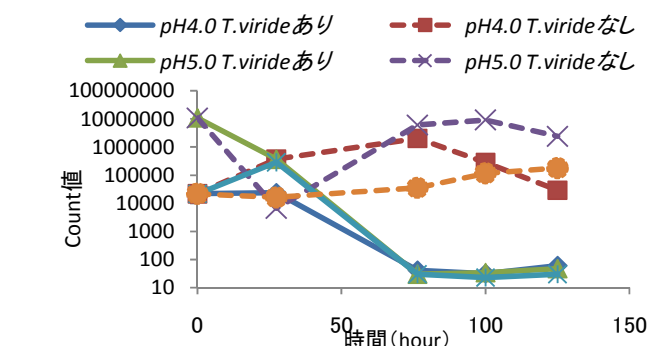


図-9 pH 別における *Trichoderma viride* によるナラタケモドキ菌糸体の発光量の変化

適している可能性は考えられる。なお、ここでは様々な土壤化学特性についてナラタケ類の有無や棲み分けとの関係について解析したが、各々の化学特性間にも相関がある可能性があり、それぞれの影響をはっきりと断定するにはより多くのデータを集めて検討する必要がある。また、ナラタケ類は *T. viride* によって防除できる可能性が示唆されたが、本研究では培地上のみでしか実験を行っておらず、実環境における外的要因を考慮していない。従って、吉野山でナラタケ類の防除を実施する為には、ナラタケ類に感染した根系に *Trichoderma spp.* を接種する防除実験や、実際に吉野山で、*Trichoderma spp.* を散布し、防除効果をモニタリングする必要がある。また、*Trichoderma spp.* の散布量を検討すると同時に、散布によって引き起こされる外部からの生物の侵入に関する生態系攪乱の影響やそれに伴う吉野山の環境変化に対するリスクを定量的に評価する必要があると考えられ今後の研究課題である。

引用文献

- 1) Arther, M.F., Wagner, C.K. (1983) Environ. Exper. Bot. 23 : 259-279.
- 2) 宜寿次盛生・原田陽・米山彰造・森三千雄・福田清 (2005) 温室ハウスを利用したナラタケ属きのこ原木栽培試験, 林産試験場報, 20(3) : 27-31.
- 3) 久馬一剛 (1997) 最新土壌学, 朝倉書店.
- 4) 環境庁 (1999) 第3次酸性雨対策調査取りまとめ報告書, 環境庁酸性雨対策検討会.
- 5) 村上穰司・後藤逸男・蛭木翠 (1992) 振とう浸出法による土壤の交換性陽イオンおよび陽イオン交換容量の迅速測定, 日本土壌肥科学雑誌, 63(2) : 210-215.
- 6) 那須英夫・畑本求・藤井新太郎 (1979) モモに寄生するナラタケモドキの培養上の諸性質について, 日本植物病理学会報, 45(1) : 100.
- 7) 佐竹研一 (1996) 酸性物質の生態系に与える影響に関する研究 (1) 酸性物質の植物環境系に与える影響, 国立環境研究所平成7年度終了研究課題 : 112-115.

(2011. 7. 11 受理)

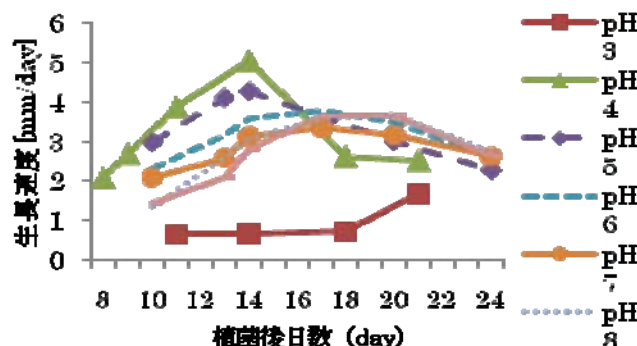


図-7 pH の違いによるナラタケの菌糸生長速度

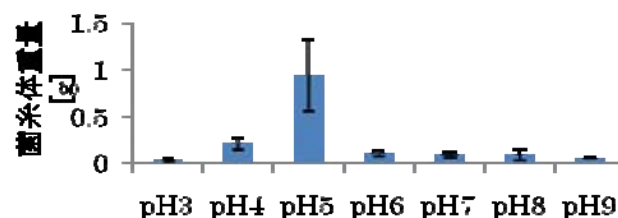


図-8 pH の違いによるナラタケモドキの菌体重量
(平均±SD, 各地点にて n=5)



写真-1 微生物共存下でのナラタケ類の生長 (pH4)
(右) ナラタケ (左) ナラタケモドキ