

マツタケ増殖技術開発に関する研究 III

アカマツ林に生息する放線菌及び細菌の抗菌性

下川 利之

Researches on the Cultivation Method
of *Tricholoma matsutake* in the Field III

Antibiotic activities of some *Bacteria*
and *Actinomycetes* inhabiting
in pine forest soil

Toshiyuki SIMOKAWA

アカマツ林の特定林地条件下に生息する、マツタケ菌などの繁殖環境に深いかかわりをもっていると推測していた放線菌類及び細菌類などの菌間抗菌性を知るため、県下、アカマツ林内に形成されているマツタケのシロ周辺土壌を中心に、抗かび性の放線菌類及び細菌類の収集を9年間継続して行った。純粹培養化できた菌株の菌学的検討はできなかったが、Colonyの形態的特徴などによって培養typeとして類別した。これら培養typeの抗菌性の生物検定は、生菌間の対峙培養及び産生物質は濾紙法などによって行い、主に、マツ林土壌内に生息している諸菌類に対する抗菌性をin vitroで検索した。

抗菌性のある放線菌及び細菌間においても抗菌作用が認められた。特定の放線菌、細菌などの生菌及び産生物質ともに糸状菌類及び高等菌類などに対して差が認められはするものの、選択的に抗菌性を認めた。とくに、マツタケ菌に対する抗菌性が軽微であって、他の土壌菌類の多くの種に対して生菌、産生物質ともに制菌的な抗菌性が認められたのは*Actinomycetes* type III~1であり、一方、マツタケ菌への抗菌性が認められないtypeは、他の土壌菌類に対する抗菌性もやや劣る傾向が認められたが、生菌、産生物質ともに選択的ながら静菌的な抗菌性を認めたのは、*Actinomycetes* type V及び*Bacteria* type IIIであった。

また、*Actinomycetes* type III~1などは、植物を侵す土壌病原菌類等に対しても選択的ではあるが制菌的な抗菌性を認めた。

キーワード

アカマツ林土壌、放線菌類及び細菌類、抗菌性、糸状菌類、高等菌類、植物病原菌類

1. はじめに

マツタケのシロは、15年~30年のアカマツ若齢林分の尾根筋に最初形成され、年数の経過とともに次第に中腹に向っても形成されるようになり、生長拡大してリング状となる生態的な性質をもっているが、現

在では、このようなリング状のシロは稀にしか見かけない。林齢40年～50年頃からシロの断続が目立つようになり、やがて80年前後で消失するという事実は、現在、普遍的に認められる傾向である。

アカマツ若齢林では、マツタケと拮抗する菌類が少ないのでマツタケがシロを形成する余地が残されていると小川(1975)は推論している。又、マツタケのシロは、乾燥しやすく微生物の少ない鉾質土層にできやすく、微生物相の豊かな肥沃な土壤には形成されないと小川(1977)は報告している。アカマツ若齢林分内の高等菌類の変化について、下草木の除間伐とAo層を減すことによって、菌根菌の種数と量が減少したという伊藤ら(1979)の報告があり、鳥越(1982)も類似の生態的な変化を報告している。又、同様の施業によって糸状菌類、細菌類などが減少し、菌根菌も減少したと下川(1984)は報告している。

このような林内の植生など地表環境の改善によって、土壤微生物の生息量を $\frac{1}{2}$ ～ $\frac{1}{10}$ 程度に減少させることが期待できると農林水産省林野庁の大型プロジェクト研究成果(1984)では報告している。この報告によるとマツタケ菌が繁殖できる土壤微生物条件は $10^{1\sim3}$ (乾土1g)であるとも指摘している。シロ内部における土壤微生物量について下川(未発表)の調査によると、形成後5年目の若いシロでは、糸状菌類、細菌類、放線菌類などの生息量は 10^2 レベルであったと述べている。

一方、林齢20年～30年の若いマツ林における土壤菌類の生息分布は、尾根筋、中腹、山麓などの地形によって異なり、 $10^{1\sim6}$ と変動が著しいという下川及び藤田ら(未発表)の調査結果がある。

このようなマツタケ菌がシロを形成できる土壤微生物条件を林内植生等の地表環境の調節のみによって確保することは、おそらく限られた林地のみでしか期待できないと推測していた。

近年になって、マツタケのシロ前方の土壤に特定の放線菌及び細菌などが多いという現象が下川(未発表)によって確かめられており、又、収集した放線菌の生産する産生物質が糸状菌類に抗菌性を示したと下川(1983)は報告している。

マツタケのシロが形成されるようなマツ林の土壤内においては、生息している菌類及び住みついてくる菌類間において拮抗現象が絶え間なく続けられており、特定の微生物環境が作られ、変動しているものと推測される。これら拮抗現象の中心的存在として、抗菌性を有することで知られている放線菌類及び細菌類の抗菌性をしておく必要があったのでこの調査を行った。

ここで報告するのは、1975年～1978年の単県弗研究「アカマツ林の土壤微生物に関する調査」、1978年～1982年の農林水産省林野庁の大型プロジェクト研究「マツタケ人工栽培技術の開発」、1979年～1982年の単県弗研究「マツタケ増殖技術開発試験」、1983年からの農林水産省林野庁の食用きのこ栽培コストダウン技術「マツタケ多収穫技術の開発」などに継続実施して得られたデータであり、県下のマツタケのシロ周辺等から収集した放線菌類及び細菌類などを、アカマツ林に生息の認められる有害な土壤菌類に対して、その抗菌性を利用するためのin vitroの検索結果である。

ここに種々の御教示及びきのこ類菌株の分譲を載いた農林水産省林業試験場 小川真博士に深謝の意を表す。又、この研究の実施にあたり、Trichoderma菌類の同定を載いた筑波大学 椿啓介博士並びに有益な助言を与えられた協和醗酵工業株式会社生物研究所 河合正允博士、滋賀県森林センター 太田明氏、及びきのこ類の菌株を分譲載いた京都府林業試験場 伊藤武、藤田博美らの諸氏に心から感謝する。なお、実験の補助と資料の作製に協力載いた場内の関係各位に厚くお礼申し上げる。

2. 調査の方法

2.1 アカマツ林に生息する土壤菌類、菌株の収集

2.1.1 糸状菌類及び高等菌類の収集

アカマツ林及びマツタケのシロ周辺などにおける糸状菌類の生息量についての調査は1975年に着手し、継続実施しているが、相対的定量方法として用いた稀釈平板法及び土壤塗布法などによる培養に際して、異なるtypeを見つけた都度、純粋培養を行って8属種、17typeを収集した。この内、*Trichoderma* spp. については、筑波大学 椿啓介博士に種の同定を載いたが、*Penicillium* spp. *Aspergillus* spp. などは菌学的な種の検討を行なわなかったため、Colonyの形態によって類別した培養typeを実験に用いた。マツ林に発生するきのこ類の大部分の菌株は農林水産省林業試験場土壤微生物研究室及び京都府林業試験場などより分譲を願った。

2.1.2 放線菌類及び細菌類の収集

アカマツ林及びシロ周辺などにおける放線菌、細菌などの生息量調査も1975年から着手し、継続実施しているが、この調査過程において稀釈平板培地上に偶然、生長してきた*Trichoderma* spp. のColonyの一端に阻止帯が形成されている現象を見つけ、阻止帯部に認められる小さいColonyを釣菌して純粋培養化したところ、これら菌類の多くは*Actinomycetes*に属する菌類であった。又、*Bacteria*にも同様の拮抗作用を示す菌株があった。

これら菌類と糸状菌類との対峙培養を行ったところ、著しい拮抗作用を示す菌株の存在を知った。このような動機に基づいて、マツ林に広く生息し、繁殖力の著しい*Trichoderma* spp. *Penicillium* spp. などを指標として、シロ前方の土壤約5,000試料から1975年～1984年の9か年間に表1に示す173菌株を収集した。

表一 マツ林土壤から収集した抗菌性の放線菌の菌株

放線菌及び細菌の培養type	分離菌株番号	収集後の経過	収集した培養菌株数	消失又は放棄した菌株数	現存菌株数	備考
<i>Actinomycetes</i>	I	36	2	—	2	<i>Actinomy-</i> <i>cetes</i> III~1 に含まれる菌株の中には抗菌性の異なるものが多い。
<i>Actinomycetes</i>	II	65	4	1	3	
<i>Actinomycetes</i>	III~1	63	154	122	32	
<i>Actinomycetes</i>	III~2	3~2	1	—	1	
<i>Actinomycetes</i>	IV	32	2	—	2	
<i>Actinomycete</i>	V	86	3	—	3	
<i>Actinomycete</i>	VI	37	1	—	1	
<i>Bacteria</i>	I	112	1	—	1	
<i>Bacteria</i>	II	12	1	—	1	
<i>Bacteria</i>	III	82	1	—	1	
<i>Bacteria</i>	IV	62	2	—	2	
<i>Bacterja</i>	V	113	1	—	1	
計			173	123	50	

注 1. 培養菌株数は、培養の都度収集した菌株を示す。
 2. 消失又は放棄した菌株。
 消失：継代培養の不能又は培養ミスにより再生不能となった菌株。
 放棄：培養typeの類別に際して、Colonyの形態が明らかに同一であるため放棄した菌株。

これら収集した菌株の中には、同一種とみられる菌株がかなり認められ、菌学的な検討の必要に迫られた。放線菌の分類体系はKrainsky (1917)⁷⁾などによる報告はあるが、主に*Streptomyces*の分類が主流を占め、中でもWaksman (1916)⁷⁾の分類型式はよく知られている。しかし、*Streptomyces*属の分類にしても近年、ISP方式に改められつつあり、放線菌の属の判定をめぐって研究者の悩ましい問題となっている。このように、系統的分類の確立していないこと及び利用価値を優先して検討する研究方針もあって本研究では、培地上に形成されるColonyの形態的特徴によって、放線菌を6type、細菌を5typeに類別した。なお、一部菌株の同定を1979年に日本微生物化学研究所、1983年に協和醗酵工業株式会社東京研究所などに依頼した。協和醗酵工業株式会社東京研究所の生理的な検定による特定物質の生産性からみて、*Actinomycetes* type III~Iは、*Streptomyces*の一属らしいとの回答を得たにとどまった。したがって、本報告では培養typeとして報告する。(以下、*Actinomycetes* type Iは*Act. I*、*Bacteria* type Iは*Bact. I*と表示する)なお、1984年からの収集は稀釈滴下法(仮称)によって、林地及び地形を異にした場合の生息数の相対的な定量とColonyからの純粋培養が容易となった。

2.1.3 培地

*Actinomycetes*及び*Bacteria*の分離培養及び検定には、抗生物質生産用放線菌培養培地(M-28)⁸⁾を*Eumycetes*との対峙培養及び沱紙法(ペーパーデスク法)による検定には、Synthetic agar培地を用い、マツタケ菌に対する検定には、マツタケ用の合成培地を、その他のきのこ類に対する検定にはP. De. A (East 1g添加)⁹⁾を用いた。

2.1.4 培養条件

供試菌類の分離、増殖及び検定のための培養は、インキュベーター内、23°Cの温度条件下で静置培養を行った。産生物質を生産させるための振盪培養は、振盪数100rpmで23°Cの温度条件下で24h~72h、ついで、20°Cの条件下で192h~408hの培養を行い自己消化を行わせた。しかし、培養に際して前駆物質の添加、フィディング、発泡抑制剤の添加などは行わなかった。

2.1.5 産生物質液の調製

振盪培養を終了した培養液は、冷温処理を24h行ったのち、定量沱紙等及びガラス繊維沱紙などを用いて、Na1, 2, DP70, GC90, Na6, 5Cの順に沱過する段階的吸引沱過によって溶液の粒子径を300 μ とする除菌(1)を行い、H₂SO₄等の規定液を用いてPH5.0に調整した。ついで、培養沱液の凍結処理を24h行ったのち、真空蒸発法によって1/5量に濃縮し、メンブランフィルター(TM300, 100, 80, 1, 3)の順序に沱過除菌する段階的除菌(2)によって溶液の粒子径を0.3 μ 以下として無菌化を図った。

2.1.6 抗菌性の検定

放線菌及び細菌など生菌の抗菌性は、供試菌類との対峙培養を行い、生長してくるColonyの接触に伴う拮抗反応によって判定した。産生物質の抗菌性は、沱紙法(東洋Paper disc, size 8mm)によって、供試菌類に対する孢子発芽阻止力及び菌糸伸長阻止力などをペーパーデスクの周辺に形成される阻止帯(無菌帯)の程度によって判定した。抗菌性の表示は、検定対照菌類のColonyが放線菌類及び細菌類などの生菌及び産生物質を滴下したペーパーデスクに接触した場合の拮抗現象によって次の4段階に別れた。

++: 制菌力が著しい(明瞭な阻止帯が形成される)

+: 制菌力を認める(接触にとどまり、反対側は阻止帯となる)

土：静菌力を認める（接触時点では阻止作用を認めるが、対照菌類の生長に伴って阻止帯はこん跡しか認められなくなる。

一：抗菌力を認めない（接触時から阻止帯が認められず、対照菌類は正常に生長する）

3. 結果と考察

3.1 アカマツ林に生息する放線菌類及び細菌類の分布

アカマツ林土壌からの放線菌類及び細菌類などの検出頻度を表1に示す。放線菌類では、*Act.* III~1が最も多く検出され、*Act.* Vも地形によってはかなり検出された。*Act.* I, II, IVなどの検出は希れであった。細菌類では、*Bact.* I, III, IVなどはよく検出されたが、*Bact.* II, Vなどの検出は少なかった。

これら菌類のマツ林内における生息分布については、下川（未発表）の調査例によると、マツ林を尾根から山麓までを4等分して順次、I, II, III, IV型地形に林型区分した場合、I~II型地形からは、*Act.* III~1が極めて多く検出され、ついで*Bact.* I, III, IVなどもかなり検出される。III型地形では、*Bact.* I, IIIの検出が多くなり、*Bact.* IVの検出もかなり認められるが、*Actinomyces*の生息は潜在的なのか検出は希れであった。IV型地形になると、*Act.* IV, *Bact.* I, IVの検出が多くみられるようになり、*Bact.* IIIもかなり検出された。このように、放線菌類及び細菌類の生息分布は、林分の地形によって、生息typeと生息数に変動し、マツタケ菌の生息適地林型といわれているI~II型地形に*Act.* III~1など特定typeの生息の多い傾向は、マツタケ菌の繁殖できる土壤微生物環境と深いかわりをもっていることが推察される。

3.2 放線菌類及び細菌類の抗菌性

3.2.1 放線菌類及び細菌類間の抗菌性

Actinomyces 6 type 及び *Bacteria* 5 type の菌間抗菌性を表2に示す。

表一2 放線菌及び細菌間の抗菌性

対照菌種	培養分類type	抗菌菌種培養type 菌株番号	<i>Actinomyces</i>						<i>Bacteria</i>					
			I	II	III~1	III~2	IV	V	VI	I	II	III	IV	V
			36	65	63	3~2	32	86	37	112	12	82	62	113
<i>Actinomyces</i>	I	36	—	—	+	+	+	+	+	±	—	+	—	+
	II	65	—	—	±	+	+	—	—	—	±	+	+	+
	III~1	63	+	±	—	±	+	±	±	+	—	+	±	+
	III~2	3~2	+	+	±	—	+	+	±	+	±	+	+	±
	IV	32	+	+	+	+	—	±	—	±	±	±	+	+
	V	86	+	—	±	+	±	—	—	±	—	+	+	+
<i>Bacteria</i>	VI	37	±	—	±	±	—	—	—	+	—	±	±	+
	I	112	±	—	+	+	±	±	+	—	+	+	+	+
	II	12	—	±	—	±	±	—	—	+	—	±	±	±

対照菌種	培養分離株番号	抗菌菌種 type	<i>Actinomyces</i>						<i>Bacteria</i>					
			I	II	III~1	III~2	IV	V	VI	I	II	III	IV	V
			36	65	63	3~2	32	86	37	112	12	82	62	113
<i>Bacteria</i>	III	82	⊕	⊕	⊕	+	⊕	+	⊕	+	±	-	⊕	⊕
	IV	62	-	+	±	⊕	+	+	⊕	+	±	±	-	±
	V	113	+	⊕	+	±	+	+	+	⊕	⊕	+	⊕	-

注 1. 抗菌性は抗菌菌種 (type) の抗菌力で示す。

2. 抗菌性の表示

⊕: 制菌力が著しい。

+: 制菌力を認める。

±: 静菌力を認める。

-: 抗菌力を認めない。

⊕: 抗菌力は表示のとおり劣る。

これらの抗菌性はtype相互間においても認められ、*Act.* III~1は他の多くのtypeに対して制菌的な抗菌性が認められるが、*Act.* IV, V及び*Bact.* Iなどに対しては抗菌性の劣る傾向を認めた。このように、天然土壌内においては、抗菌性をもつ菌類間においても生息種間に安定したバランスが成立しているものと推察された。このことに関して、マツ林の土壌酸度はPH 4.5~5.2であると木本(1980)¹⁰⁾は報告しており、本菌類の繁殖に適するPHは、in vitro 培養でPH 7.0附近であること及びマツ林の地形により生息分布するtypeが異なる実態などからみて、マツ林のI~II型地形から多く検出される*Act* III~1などは、抗菌性の強いtypeではあるが、その抗菌性を利用して異常繁殖しているのではなく、せき悪で乾燥気味の林地でも住みつける生態的性質とその抗菌性に保護されて潜在的に先んじて生息しており、一方、他の菌類にとっては繁殖の困難な条件を形成しているものと考察された。

3.2.2 放線菌類及び細菌類の特定糸状菌類に対する抗菌性

Actinomyces 及び *Bacteria* の各typeが、アカマツ林土壌内に生息する主要な糸状菌類に対する抗菌性を表3に示す。

表-3 放線菌及び細菌の主要な糸状菌に対する抗菌性

対照菌種	培養分離株番号	抗菌菌種 type	<i>Actinomyces</i>						<i>Bacteria</i>					
			I	II	III~1	III~2	IV	V	VI	I	II	III	IV	V
			36	65	63	3~2	32	86	37	112	12	82	62	113
<i>Pestalotia</i> spp.			±	-	⊕	⊕	⊕	-	±	⊕	⊕	+	⊕	+
<i>Trichoderma konigii</i>			-	-	⊕~+	-	+	-	±	-	-	±	±	+
<i>T. harzianum</i>			±	-	⊕~±	-	±	±	±	-	-	+	-	±
<i>Penicillium</i> spp. (培養type)	1		±	-	⊕	⊕	⊕	±	+	⊕	-	±	+	±
	2		-	-	⊕	+	+	-	±	+	±	+	±	+
	3		±	-	⊕	⊕	+	-	-	⊕	-	+	-	⊕
	4		-	±	⊕	⊕	+	±	+	⊕	⊕	+	+	±

対菌種	抗菌菌種 培養type 分離菌株番号	<i>Actinomycetes</i>						<i>Bacteria</i>					
		I	II	III~1	III~2	IV	V	VI	I	II	III	IV	V
		36	65	63	3~2	32	86	37	112	12	82	62	113
<i>Penicillium</i> spp. (培養 type)	5	±	—	+	+	+	—	±	±	±	±	±	+
	6	±	—	±	+	±	—	±	+	—	+	—	+
<i>Aspergillus</i> spp. (培養 type)	1	+	—	+	+	+	±	±	±	±	+	+	+
	2	—	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
	3	+	—	+	+	+	±	+	±	+	+	+	+
<i>Mucor</i> sp.		—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+
<i>Scopulariopsis</i> sp.		+	+	+	+	+	±	+	±	—	—	+	+
<i>Mortierella</i> sp.		+	±	+	+	+	—	+	+	+	±	+	+

- 注 1. 抗菌性は、抗菌菌種 (type) の抗菌力で示す。
 2. 抗菌性の表示
 +: 制菌力 (菌糸伸長阻止) が著しい。
 ±: 制菌力を認める。
 ±: 静菌力を認める。
 —: 抗菌力を認めない。

この抗菌性は選択的であったが、中でも落葉分解に関係する菌類、*Pestalotia* sp.: *Trichoderma konigii*, *T. harzianum*, *Aspergillus* spp. に対して共通的に制菌的な抗菌性の著しいtypeは、*Act.* III~1, IV及び *Bact.* IIIなどであり、土壌及び根圏生息菌類である*Penicillium* spp. に対して共通的に制菌的な抗菌性の著しいtypeは、*Act.* III~1, III~2, IV, *Bact.* I, III, Vなどであり、*Mucor* sp. に対しては、*Bact.* II, III以外のtypeには制菌的な抗菌性が認められた。

マツタケ菌の繁殖、シロ形成等に当って最も敵対するのは、糸状菌類であると小川 (未発表) は推測しており、糸状菌類に選択的ながら制菌的な抗菌性を示す *Act.* III~1, *Bact.* IIIなどがマツ林のI~II型地形などに多く生息していることは、シロが天然に形成される場合の土壌内微生物環境の形成、維持に関与しているものと推察された。

3.2.3 放線菌類及び細菌類の特定きのこ類に対する抗菌性

Actinomycetes 及び *Bacteria* が、マツタケのシロ及び周辺、イヤ地化した林地に発生する主要なきのこ類に対する抗菌性を表4に示す。マツタケ菌に対して抗菌性を認めなかったtypeは、*Act.* V, *Bact.* II, IIIなどであり、一時的に静菌的な抗菌性を認めたのは、*Act.* III~1, III~2, *Bact.* IVなどであった。なお、*Act.* III~1は、表-1に示すように32菌株を同typeとして類別しているが、これらの菌株の中にはColonyの形態には差が認められなくても、対時培養検定を行うと抗菌性に差の認められる菌株があり、数菌株は、マツタケ菌に対する抗菌性が一時的に静菌的な抗菌性を示す程度であって、他の菌類に対する抗菌性は変らない。このような菌株は、今後異なるtypeとして扱うのが適切ではないかと考えている。

表一4 放線菌及び細菌の特定きのこ類に対する抗菌性

対照菌種	抗菌菌種		<i>Actinomycetes</i>						<i>Bacteria</i>					
	培養type	分離菌株番号	I	II	III~1	III~2	IV	V	VI	I	II	III	IV	V
			36	65	63	3~2	32	86	37	112	12	82	62	113
マツタケ <i>Tricholoma matsutake</i>			±	±	±~±	±	+	-	±	+	-	-	±	±
シロシメジ <i>T. japonica</i>			+	±	±	±	±	+	+	+	±	+	+	±
ホンシメジ <i>Lyophyllum decatum</i>			+	+	±	±	±	+	±	±	-	+	+	+
ハツタケ <i>Lactarius hatsutake</i>			+	+	±	-	±	+	+	+	+	+	±	±
ヌメリイグチ <i>Suillus luteus</i>			+	+	±	±	±	+	+	+	+	±	±	-
テングタケ <i>Amanita pantherina</i>			+	±	±	±	+	±	+	±	+	+	-	±
ナラタケ <i>Armillariella mellea</i>			-	-	±~±	+	+	-	-	±	-	-	-	-
シイタケ <i>Lentinus edodes</i>			-	+	+	±	±	±	-	±	-	±	-	-

- 注 1. 抗菌性は抗菌菌種 (type) の抗菌で示す。
 2. 抗菌性の表示
 ±: 制菌力 (菌糸伸長阻止) が著しい。
 +: 制菌力を認める。
 ±: 静菌力を認める。
 -: 抗菌力を認めない。

マツタケ以外の主要なきのこ類に対して、選択的ながら顕著な制菌的抗菌性を認めたのは、*Act.* III~1, IVであり、*Act.* III~2, *Bact.* Iなども選択的に制菌的な抗菌性が認められた。ついで、選択性が著しいものの制菌的ないし静菌的な抗菌性が *Act.* I, II, V, VI及び *Bact.* II, III, IV, Vなど多くのtypeに認められた。

このように、マツタケ菌に対する抗菌性が一時的に微弱であるか又は、認められないtypeで、他の菌根性きのこ類等に対して抗菌性の認められる菌株は、今後、シロの人為形成を行う場合に前処理として欠せない、菌根性きのこ類等のシロの排除及びマツ根系に寄生している菌根菌などの除去への利用が期待でき、*Act.* IV, *Bact.* IIIなどの利用については *in vivo* の実験に着手している。

腐生性きのこ類のナラタケ菌に対して、制菌的な抗菌性を認めたのは、*Act.* III~1 (大部分の菌株)、III~2, IVであり、静菌的な抗菌性を認めたのは、*Act.* III~1 (数菌株)、*Bact.* Iなどであった。又、シイタケ菌 (W~4) に抗菌性を示さなかったのは、*Act.* I, VI, *Bact.* II, IV, Vなどであった。

3.2.4 放線菌類及び細菌類の土壌病原菌類に対する抗菌性
 植物の土壌病原菌類に対する抗菌性を表5に示す。

表一五 放線菌及び細菌の病原菌類に対する抗菌性

対照菌種	抗菌菌種	<i>Actinomycetes</i>						<i>Bacteria</i>					
	培養type	I	II	III~1	III~2	IV	V	VI	I	II	III	IV	V
	分離菌株番号	36	65	63	3~2	32	86	37	112	12	82	62	113
<i>Fusarium oxysporum</i>		+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>F. solani</i>		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
<i>Rhizoctonia solani</i> (RC ~ 18)		-	-	+	+	±	-	+	+	-	-	-	+
<i>Beauveria Bassiana</i>		-	-	+	+	±	-	-	-	-	-	-	±

注 1. 抗菌性は抗菌菌種 (type) の抗菌力で示す。

2. 抗菌性の表示。

++: 制菌力 (菌糸伸長阻止) が著しい。

+: 制菌力を認める。

±: 静菌力を認める。

-: 抗菌力を認めない。

苗木の立枯被害等を生じさせる *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* などに選択的ながら制菌的な抗菌性を認めたのは, *Act.* III~1, III~2, VI, *Bact.* I, V であり, *Act.* IVもこれらの病原菌類に制菌的ないし静菌的な抗菌性が認められた。又,連作障害畑の土壌内などで生息が多いといわれる。*F. solani* に対しては, *Act.* 各type及び *Bact.* V以外の各typeなどに制菌的な抗菌性が認められた。

又,昆虫類の微生物病原として,よく研究に用いられる *Beauveria bassiana* に対しては, *Act.* III~1, 2に制菌的な抗菌性が認められ, *Act.* IV, *Bact.* Vなどには,静菌的な抗菌性が認められた。

このように,土壌病原菌類に対しても共通的若しくは選択的に制菌的な抗菌性を示すtypeがあり,畑土内における微生物的環境,調節への利用も考えられる。

3.3 放線菌類及び細菌類が生産する産生物質の抗菌性

3.3.1 抗かび性産生物質の探索

産生物質の濃縮は,最初,エバポレーターを用いていたが,この方法によると,培養に際して発泡抑制¹¹⁾剤を使用していないこともあって,濃縮が進行するにつれて発泡が始まり,水分以外の有機体物質まで排出した。又,濃縮度の同一化が困難であった。このようなラフな濃縮法により,放線菌及び細菌の各typeが生産する産生物質液の抗菌性を表6に示す。抗菌性の判定指標菌類として用いたマツタケ菌及び *T. koningii*, *T. harzianum* などに対して有効な抗菌性とは,マツタケ菌に対する抗菌性が認められなくて, *Trichoderma* spp. 等に抗菌性を有することである。各産生物質液の中では, *Act.* IIIの産生物質液 (以下 *Antib. A.* III~1 と表示する) は *Trichoderma* spp. に対して制菌的ないし静菌的な抗菌性が認められ,マツタケ菌に対する抗菌性は,一時的に静菌的な抗菌性

を示したが、稀釈によって抗菌性は認められなくなった。又、マツタケ菌に抗菌性を示さず、*Trichoderma* spp. 等に選択的ながら制菌的ないし静菌的な抗菌性を認めたのは、Antib.A.V, Antib.B. IIIであった。

表-6 放線菌及び細菌が生産する抗かび性産生物質の探索

探索種別 産生物質の 生産菌糸	マツタケ菌 への影響			かび菌類の指標としたトリコデルマ 菌への抗菌性						放線菌, 細菌の 生菌の 抗菌性	備考	
	産生物質 の濃縮度 エポ レータ 使用	原剤	希釈 1/5剤	<i>Trichoderma koningii</i>			<i>T. harzianum</i>					
				原剤	1/5剤	1/10剤	原剤	1/5剤	1/10剤			
<i>Actinomycete</i> type. II	1/5	±	—	—	—	—	—	—	—	—	±	○生産培地
<i>Act.</i> , III	1/12	±	—	+	+~±	±~—	+	+~±	—	+	±~±	はM. 28
<i>Act.</i> , IV	1/5	±~—	—	*	*	*	±~—	—	—	—	+	○振盪培養
<i>Act.</i> , V	1/3	—	—	+~±	+	—	—	—	—	—	—	は216 h
<i>Act.</i> , VI	1/3	—	—	—	—	—	*	*	*	—	—	
<i>Bacteria</i> type. III	1/3	—	—	+~±	—	—	+~—	—	—	—	—	
<i>Bact.</i> , IV	1/7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	

- 注 1. 抗菌性の検定は、ペーパーデスク法による。
 2. 抗菌性の表示
 +: 阻止帯の形成が顕著である。
 ±: 阻止帯の形成が明らかである。
 ±: 阻止帯の形成がわずかに認められる。
 —: 阻止帯の形成が一時的のみしか認められないか、全く認められない。
 3. *は、マツタケ菌増殖には、検討価値がないと判定したため未検定である。

このように、有効な抗かび性産生物質としては、Antib.A.V及び Antib.B. IIIなどを検索したが、これらの抗菌性は濃縮度の同一化と培養から濃縮に至るまでの方法を含めてさらに検討の必要があると考えた。

3.3.2 産生物質生産用培地の組成と抗菌性の変化

8) 産生物質生産用放線菌培養培地の常法組成は、グルコース5g、グリセリン5g、でんぷん5g、肉エキス5g、NaCl5g、ペプトン5g、大豆粉5g、乾燥酵母5g、蒸留水1,000ml当りで、PH7.0であるが、PH以外の各組成量を1/1、1.5/1、2.0/1とするラフな培地組成の変化を行った場合のAntib.A. III~1の指標菌類に対する抗菌性を表7に示す。

Antib. A. III~1を常法培地(1/1)、1/2培地、2/3培地などで生産された場合の抗菌性を対比してみると、*Trichoderma* spp. *Penicillium* sp. などに対しては、1/2培地で生産した場合に抗菌性がやや向上し、2/3培地ではやや劣った。*Mucor* sp. シロシメジなどに対する抗菌性には変化が認められなかった。*Bact.* IVに対しては、1/2及び2/3培地を用いた場合に抗菌性がやや向上した。マツタケ菌に対しては2/3培地を用いた場合に抗菌性が認められなくなった。

表一 7 産生物質の培地組成と抗菌性

検 定 菌 種			M. 28培地の組成量			備 考
			1/1	1.5/1	2.0/1	
Eumycetes	<i>Tricho-</i> <i>derma</i>	<i>koningii</i>	++ (+)	++ (+)	± (±~-)	○振盪培養時間は 360 h
		<i>harzianum</i>	++~+ (-)	++ (-)	++~+ (-)	
	<i>Penicillium</i> (type - 1)		++~+ (++~+)	++ (++~+)	++~+ (++~+)	○生産菌糸は放線菌 培養 type. III~1
	<i>Mucor</i> sp.		(±~-)	(±~-)	(±~-)	
Bacteria	type - IV		-	±~-	±~-	○原剤は1/3濃縮剤
Fungal	マ ツ タ ケ <i>Tricholoma matsutake</i>		(±)	(±)	(-)	
	シ ロ シ メ ジ <i>T. japonicum</i>		(+)	(+)	(+)	

注 1. 抗菌性の表示

- ++：阻止帯の形成が著しい。
- ++：阻止帯の形成が明らかである。
- ±：阻止帯の形成をわずかに認める。
- ：阻止帯の形成は一時的のみに認めるか、全く認めない。

2. 上段は孢子発芽阻止力、()内は菌糸伸長阻止力を示す。

このように、生産培地の組成成分のラフな変動によっても抗菌性の変化することが推定でき、マツタケ菌の繁殖を重視する場合には、²/₁培地が適し、他の糸状菌類等に対する制菌的ないし静菌的な抗菌性を期待する場合には、^{1.5}/₁培地が適する傾向が認められた。しかし、組成成分のC/N比及び培養に際しての前駆物質の添加、フィーディングなどを行った場合の抗菌性は、今後、さらに検討が必要であると考えている。

3.3.3 産生物質の培養時間と抗菌性

抗細菌性等の抗生物質生産培養期間は、通常6日~10日間位行われている。¹¹⁾抗かび性産生物質の生産は、同様の培養期間ではその抗菌性からみて産生物質の生成が微量であり、少し長期間の培養が必要と考えた。

最初、振盪培養に伴う菌体の繁殖状態の観察によって、216 h (9日)の培養を行っていたが、培養期間の抗菌性への影響を知るため、Antib. A. III~1の216 h, 360 h, 480 hなどの培養を行った場合の抗菌性を表8に示す。

表一8 産生物質の培養時間と抗菌性

検 定 菌 種		振 盪 培 養 時 間 (h)			備 考
		216	360	480	
Eumycetes	<i>Trichoderma koningii</i>	++ (±)	++ (±)	++ (+~±)	○培地の組成量は1/4 ○生産菌系は放線菌 培養 type A. III~1 ○原剤は1/3濃縮剤
	<i>T. harzianum</i>	++ (-)	++ (±)	++ (±~-)	
	<i>Penicillium</i> (type I)	++ (++~+)	++ (++~+)	++ (++~+)	
	<i>Mucor</i> sp.	(±~-)	(±~-)	(±~-)	
Bacteria	type IV.	-	±~-	±~-	
Fungal	マツタケ <i>Tricholoma matsutake</i>	(-)	(±)	(±)	
	シロシメジ <i>T. japonicum</i>	(+)	(+)	(+)	

注 1. 抗菌性の表示

- ++: 阻止帯の形成が著しい。
- +: 阻止帯の形成が明らかである。
- ±: 阻止帯の形成をわずかに認める。
- : 阻止帯の形成は、一時的のみに認めるか、全く認めない。

2. 上段は、孢子発芽阻止力、()内は菌糸伸長阻止力を示す。

これら培養時間による抗菌性の変化は、*T. koningii*に対しては、480 h培養した場合、孢子発芽阻止力は低下したが菌糸伸長阻止力は向上した。*T. harzianum*に対しては、360 h以上培養した場合に同様の傾向が認められた。*Penicillium* sp. *Mucor* sp. シロシメジなどに対する抗菌性には変化が認められなかった。又、*Bact.* III及びマツタケ菌に対しては、360 h以上の培養を行った場合、抗菌性をわずかに認めるようになった。したがって、マツタケ菌の繁殖を重視する場合は216 h位の培養が適し、他の糸状菌類等への制菌的ないし静菌的な抗菌性を期待する場合には360 h位の培養が適しているものと考えられた。

3.3.4 産生物質の稀釈度と抗菌性

産生物質を利用する場合には、可能な限度まで低濃度に稀釈できることが望ましい、そこでAntib. A. III~1の1/3濃縮液の稀釈に伴う抗菌性の変化を表9に示す。原液(Ⅰ)では、*Trichoderma* spp. *Penicillium* sp. *Mucor* sp. *Bact.* IV, シロシメジ, マツタケなどに対して、差はあるものの抗菌性が認められた。一方、1/3稀釈液になると、シロシメジに対する制菌的な抗菌性及び、*Mucor* sp. マツタケ菌などのみに、一時的の静菌的な抗菌性しか認められなくなった。

表-9 産生物質の稀釈度と抗菌性

検定菌種		稀釈の区別						備考
		稀 積 度						
		1/1	3/1	5/1	10/1	20/1	30/1	
Eumycetes	<i>Trichoderma koningii</i>	++~+	+~±	-	-	-	-	○培地組成は 1/3
	<i>T. harzianum</i>	++	±	-	-	-	-	○培養時間は、 360 h
	<i>Penicillium</i> (type I)	++	++~+	-	-	-	-	○生産菌糸は放線 菌培養type. III ~1
	<i>Mucor</i> sp.	(±)~(±)	(±)~(±)	(±)~(±)	(±)~(±)	(-)	(-)	○原剤は1/3濃縮剤
Bacteria	type IV	±	±	-	-	-	-	
Fungal	マツタケ <i>Tricholoma matsutake</i>	(±)	(±)~(±)	(±)~(±)	(-)	(-)	(-)	
	シロシメジ <i>T. japonicum</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	

- 注 1. 抗菌性の表示
 ++: 阻止帯の形成が著しい。
 +: 阻止帯の形成が明らかである。
 ±: 阻止帯の形成をわずかに認める。
 -: 阻止帯の形成は、一時的のみに認めるか、全く認めない。
2. 上段は孢子発芽阻止力, () 内は菌糸伸長阻止力を示す。

マツタケ菌に対して一時的に静菌的な抗菌性が認められるものは、糸状菌類及び菌根性きのこ類などへ制菌的ないし静菌的な抗菌性を期待する場合には、1/3稀釈液が利用可能な下限濃度と推定した。ここで注目したいのは、培養液を凍結真空濃縮することによって、マツタケ菌の生長を阻害する物質が除かれているらしいことである。1/3稀釈液のマツタケ菌繁殖への影響については、液体培地及び土壌培地への添加などによって、その繁殖を確認しており、今後、in vivo 実験によって利用効果を検討する必要があると考えている。

3.3.5 産生物質 (Act. III~1) の土壌菌類に対する抗菌性

マツ林土壌に生息する放線菌及び細菌などが生産する産生物質が他の菌類に対して、選択的ながら抗菌性を示すことが判明してきた。

そこで、マツ林土壌内に生息する糸状菌、きのこ類等に対する抗菌性を順次検定した結果、マツタケ菌に対する抗菌性は一時的に微弱であり、他の糸状菌類等に対して制菌的ないし静菌的な抗菌性を期待できるのは、Antib. A. III~1であることが明らかとなってきた。

Act. III~1の生菌及び産生物質液(原剤)の抗菌性を表10に示す。

表-10 放線菌の産生物質 (Anb. III~1) の諸菌類に対する抗菌性

検 定 菌 種			抗 菌 性		備 考
			孢子発芽抑制	菌糸伸長阻止力	生菌の抗菌性
Eumycetes	<i>Trichoderma</i>	<i>Koningii</i>	++~+	+~±	++~+
		<i>harzianum</i>	++	±~—	—~±
	<i>Penicillium</i> spp. (培養 type)	1	++	++	++
		2	++	++	++
		3	++	++	++
		4	++	+	++
		5	++	++	++
		6	++	+	±
	<i>Aspergillus</i> spp. (培養 type)	1	++	++	++
		2	++	+	++
		3	++	±	++
	<i>Pestalotia</i> sp.		—	—	++
	<i>Scopulariopsis</i> sp.		++	++	++
<i>Mucor</i> sp.		?	±~—	—	
<i>Mortierella</i> sp.		?	±	+	
Bacteria	type I	+	+	—	
	type II	+	+	—	
	type III	+	+	++	
	type IV	±	±	±	
	type V	+	+	+	
Fungal	<i>Tricholoma matsutake</i> マ ツ タ ケ		?	+~—	++~±
	<i>Lyophyllum decates</i> ホ シ メ ジ		?	++	++
	<i>L. feumosum</i> シ ャ カ シ メ ジ		?	++	?
	<i>T. albobrunneum</i> カ キ シ メ ジ		?	++	?
	<i>L. transforme</i> カ ク ミ ノ シ メ ジ		?	+	?
	<i>Tricholoma japonica</i> シ ロ シ メ ジ		?	+	±
	<i>T. flavovilens</i> キ シ メ ジ		?	++	?
	<i>Phyllaporus rhodoxanthus</i> キ ヒ ダ タ ケ		?	+	+~±
	<i>Panus cancnatus</i> カ ワ キ タ ケ		?	—	+
	<i>Amanita pantherina</i> テ ン グ タ ケ		?	++	++
	<i>Suillus lutes</i> ス メ リ イ グ チ		?	++	++
	<i>Strobilomyces flaccopas</i> オ ニ イ グ チ		?	—	+
	<i>Suillus borinus</i> ア ミ タ ケ		?	++	?
	<i>Marasmius grevillei</i> オ オ ホ ウ ラ イ タ ケ		?	±	±~—

検 定 菌 種		抗 菌 性		備 考
		胞子発芽抑制	菌糸伸長阻止力	生菌の抗菌性
Fungal	マツタケモドキ <i>T. robustum</i>	?	±	+
	ニセマツタケ <i>T. fevocastrum</i>	?	-	+
	オオウズラタケ <i>Laetiporus versisporus</i>	?	-	?
	ハツタケ <i>Lactarius hatsutake</i>	?	+	+
	ナラタケ <i>Armillariella mellea</i>	?	+	+
Parasitic Fungi	<i>Fusarium oxysporum</i>	?	+	+
	<i>F. solani</i>	?	+	+
	<i>Rhizoctonia solani</i>	?	+	+
	<i>Beauveria bassiana</i>	?	±	+

- 注 1. 抗菌性の表示
 +: 制菌力が著しい。
 ±: 制菌力が明らかである。
 ±: 静菌力を認める。
 -: 抗菌力を認めない。
 ? : 検定不可能、または実施しなかった。
2. 供試原剤は1/8濃縮剤である。

Antib. A. III~1をマツタケ菌の増殖に利用するためには、「稀積度と抗菌性」の実験結果でも述べたように、~~3~~液に稀積するのが限度であるので、表10に示す原液の抗菌性は低く評価しなければならないが、この抗菌性の傾向としては、糸状菌類の*Trichoderma* spp. に対しては、胞子発芽阻止力については*T. koningii*に対し、制菌的な抗菌性が認められる。*T. harzianum*に対しては、静菌的な抗菌性しか認められない。*Penicillium* spp. の多くのtypeに対しては、胞子発芽阻止力及び菌糸伸長阻止力ともに制菌的な抗菌性が認められる。*Aspergillus* spp. に対しては、胞子発芽阻止力に制菌的な抗菌性が認められ、菌糸伸長阻止力はtype 3に対しては静菌的な抗菌性しか認められない。*Pestalotia* sp. に対しては抗菌性が認められない。*Scopulariopsis* sp. に対しては胞子発芽阻止力及び菌糸伸長阻止力とも制菌的な抗菌性が認められる。*Mucor* sp. *Mortierella* sp. の菌糸伸長阻止力に対しては、それぞれ一時的な制菌的及び静菌的な抗菌性が認められる。

細菌類に対する抗菌性は、*Bact.* type I, II, III, Vなどに対しては制菌的な抗菌性が認められるが、*Bact.* type IVに対しては静菌的な抗菌性しか認められない。

きのこ類に対する抗菌性は、菌糸伸長阻止力に制菌的な抗菌性を認めたのは、菌根性きのこ類のホンシメジ、シャカシメジ、カキシメジ、キシメジ、テングタケ、ヌメリイグチ、アミタケ、ニセマツタケ、ハツタケ、カクミノシメジ、シロシメジ、キヒダタケ及び腐生性きのこ類、オオウズラタケ、ナラタケなどであり、静菌的な抗菌性はオオホウライタケ、マツタケモドキなどに認められる。マツタケには一時的に抗菌性が認められ、カワキタケ、オニイグチに対しては抗菌性が認められない。

植物等の土壌病原菌類に対する抗菌性で、菌糸伸長阻止力に制菌的な抗菌性を認めたのは、*Fusarium Oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani* などであった。*Beauveria*

*bassiana*に対しては静菌的な抗菌性しか認められなかった。

このような放線菌等の生産する抗生物質が生物の病原菌に対する抗菌性については、ペニシリン (A. Fleming 1928) の発見以来、抗菌スペクトラムを明示した報告が700件以上にのぼっており、この中で抗かび性の抗菌スペクトラムの明示された報告も100件以上ある。しかし、糸状菌類に対する抗菌スペクトラムは抗菌力価の低い報告が多い。これら抗かび性抗生物質を生産する菌種と本報告の培養typeとの異同については、本研究で分類学的な検討を行っていないので対比することはできなかつた。

これらの報告では、マツ林土壤に生息の多い *Mortierella* sp. *Trichoderma* spp. *Pestalotia* sp. などに対する抗菌性の報告はみあたらない。ただし、*Penicillium* spp. *Aspergillus* spp. *Mucor* spp. などに対する抗菌スペクトラムについては報告があり、本報告のAntib. A. III~1等と同等位と推定される抗菌性を示すものもあるが、Antib. A. III~1の産生物質との対比検討を行っていないので明らかでない。

マツタケ菌増殖への利用については、Antib. A. III~1が一時的にせよ抗菌性をもっているため、利用に際しては留意を要するが、マツタケ菌への一時的な生長阻害を緩和するため、後述するマツタケ菌の生長促進作用が認められつつあるAntib. B. III等の併用効果に期待を抱いている。又、植物病原菌類に対する抗菌性からみて、被害の回避又は生態的防除などへの利用についての検討も価値があるように考えられる。

Act. III~1の糸状菌類等に対する抗菌性は高く、この生息分布はマツ林土壤においては、マツタケのシロが天然に形成されているような尾根筋周辺で糸状菌類の種数、生息数とも少ない林地に多いと下川 (未発表) はいつており、マツ林土壤内で他の菌類同属のtypeなどとの菌間抗菌性及び土壤PHの不適などの条件に耐えながら、地表の植生環境の変化と影響の中で、土壤微生物環境の変動に大きい役割りを果しているものと推察される。

3.3.6 マツタケ菌に抗菌性を示さない放線菌類及び細菌類の抗菌性

マツ林土壤内に生息する放線菌類及び細菌類などのマツタケ菌に抗菌性を示さないtypeは限られているようであり、現在までの *in vitro* の検索では、Act. V及びBact. IIIの2typeのみであった。これら2typeの土壤菌類等に対する抗菌性を表11に示す。

表-11 マツタケ菌に抗菌性を示さない放線菌及び細菌の抗菌性

検定菌種	抗菌菌種		<i>Actinomyces</i> type V (86)		<i>Bacteria</i> type III (82)		備 考
	抗菌の区別		生 菌	産生物質 (原則)	生 菌	産生物質 (原則)	
<i>Eumycetes</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Koningii</i>	—	±	±	±	供試原剤は1/3濃縮液である
		<i>harzianum</i>	±	—	+	—	
	<i>Penicillium</i> spp. (培養 type.)	1	±	±	±	±	
		2	—	±	+	±	
		3	—	±	+	±	
		4	±	±	+	±	
		5	—	—	+	±	
	<i>Aspergillus</i> spp. (培養 type)	6	—	±	±	±	
1		±	—	±	—		

検定菌種	抗菌菌種		Actinomycetes type V (86)		Bacteria type III (82)	
	抗菌の区別		生菌	産生物質 (原剤)	生菌	産生物質 (原剤)
Aspergillus spp. (培養 type.)	2		+	±	+	+
	3		+	+	+	+
			-	±	+	+
			±	±	+	±
			-	-	-	-
Pestalotia sp.			-	±	+	+
Scopulariopsis sp.			±	±	+	±
Mucor sp.			-	-	-	-
Mortierella sp.			+	-	±	±
Bacteria	type I		-	±~-	-	-
	type II		-	+	-	±
	type III		+	-	-	-
	type IV		+	+	±	±
	type V		+	±	+	±
Parasitic fungi	マツタケ <i>Tricholoma matsutake</i>		-	-	-	-
	ホンシメジ <i>Lyophyllum decastes</i>		+	-	+	-
	シロシメジ <i>T. Japonicum</i>		+	-	+	-
	テングタケ <i>Amanita pantherina</i>		±	-	+	±
	スメリイグチ <i>Suillus latipes</i>		+	+	±	+
	ハツタケ <i>Lactarius hatsutake</i>		+	±	+	±
	ナラタケ <i>Armillariella mellea</i>		-	-	-	-
Parasitic fungi	<i>Fusarium oxysporum</i>		-	-	+	+
	<i>F. selani</i>		+	±	+	±
	<i>Rhizoctonia solani</i>		-	-	-	-
	<i>Beauveria bassiana</i>		-	-	-	-

注 1. 抗菌性の表示
 卍：制菌力が著しい。
 +：制菌力が明らかである。
 ±：静菌力を認める。
 -：抗菌力を認めない。

Act. Vの抗菌性についてみると、*T. koningii*に対しては産生物質のみに静菌力が認められ、*T. harzianum*に対しては、生菌のみに静菌力が認められた。*Penicillium* spp. に対しては、生菌の静菌力を認めたのは*Penicillium* type 1, 4のみであり、産生物質の静菌力が認められたのは*Penicillium* type 1, 2, 3, 4, 6であった。*Aspergillus* spp. に対しては、生菌は各typeに静菌力が認められ、産生物質は*Aspergillus* type 3に制菌力が*Aspergillus* type 2に静菌力を認めた。*Pestalotia* sp. に対しては、産生物質のみに静菌力を認めた。*Scopulariopsis* sp. に対しては生菌、産生物質ともに静菌力が認められ、*Mucor* sp. には両者とも抗菌性が認められなかった。*Mortierella* sp. に対しては生菌のみに静菌力が認められた。

細菌に対しては、生菌は *Bact.* type. III, IV, V に制菌力が認められ、産生物質は *Bact.* type II, IV に制菌力を *Bact.* type. I, V に静菌力を認めた。

きのこ類に対して、生菌の制菌力を認められたのはシロシメジ、ヌメリイグチ、ハツタケなどであり、テングタケに対しては静菌力が認められた。産生物質が制菌力を示したのはヌメリイグチであり、静菌力はハツタケに対してのみに認められた。

土壌病原菌類に対しては、*F. solani* のみに抗菌性を示し、生菌には制菌力が、産生物質には静菌力が認められた。

Bact. III の抗菌性についてみると *T. koningii* に対して生菌及び産生物質とも静菌力を示し、*T. harzianum* に対しては生菌のみに制菌力を認めた。*Penicillium* spp. に対して生菌の制菌力を認めたのは *Penicillium* type 2, 3, 4, 5 であり、*Penicillium* type 1, 6 に対しては静菌力が認められた。産生物質は各 type に対して静菌力が認められた。

Aspergillus spp. に対して生菌の顕著な制菌力を認めたのは *Aspergillus* type 1, 2 であり、*Aspergillus* type 3 にも制菌力が認められた。*Pestalotia* sp. に対しては、生菌及び産生物質ともに制菌力が認められた。*Scopuloriopsis* sp. に対しては、生菌には顕著な制菌力が産生物質には静菌力が認められた。*Mucor* sp. に対してはいずれも抗菌性が認められなかった。*Mortierella* sp. に対しては生菌、産生物質ともに静菌力も認めた。

細菌に対して生菌の制菌力を認めたのは、*Bact.* IV に認められた。産生物質の静菌力を認めたのは、*Bact.* II, IV, V であった。

きのこ類に対して生菌の制菌力を認められたのは、ホンシメジ、シロシメジ、ハツタケ、テングタケなどであり、ヌメリイグチに対しては静菌力を認めた。産生物質の静菌力が認められたのは、テングタケ、ヌメリイグチ、ハツタケなどであった。

土壌病原菌類に対して生菌の制菌力を認めたのは *F. oxysporum*, *F. solani* であった。産生物質の制菌力を認めたのは、*F. oxysporum* のみであり、*F. solani* に対しては静菌力を認めた。

このように、*Act.* V 及び *Bact.* III の生菌、産生物質の抗菌性は、*Act.* III ~ 1 に比較すると劣る傾向がみられ、制菌的な抗菌性の認められる菌類もあるが、多くの菌類に対しては静菌的な抗菌性しか認められない。しかし、マツタケ菌に対して抗菌性を示せないメリットを有しており、生菌利用の可能性が期待できる。又、菌根性きのこ類に対して選択的ながら制菌のないし静菌的な抗菌性を有しているので、マツの根系に寄生してくる菌根菌の排除等への利用を期待している。

なお、*Act.* V 及び *Bact.* III などが生産する産生物質には、マツタケ菌の生長を促す作用が認められる。このような抗生物質の生物の生長促進効果については類似の報告があり、動物の生長促進作用についての Moore (1946)¹²⁾ ら、Microflora への影響について Todd (1951)¹²⁾ らの報告もあり、*Act.* V 及び *Bact.* III などは、今後、利用の期待できる type であると推察される。

表-12 マツタケ菌の培養に対する成長促進効果

菌種等	種 別 産生物質及び生菌 菌株等 區別		添加濃度	添 加 効 果		備 考
				成長促進	抗かび性	
<i>Actinomyces</i>	<i>Act. type II</i>	Antib.	1 / 50	+	±~-	○ <i>Act. III, Antib-1</i> 培養 216 h PH調整 H ₂ SO ₄ ○ <i>Act. III, Antib-2</i> 培養 216 h PH調整, 酒石酸 ○ <i>Act. III, Antib-3</i> 培養 360 h PH調整, 酒石酸 ○Antib.: Antibiotic を示す。
	<i>Act. type III</i>	Antib. ~1	1 / 50	+	±~-	
	<i>Act. type III</i>	Antib. ~2	1 / 50	+	±~-	
	<i>Act. type III</i>	Antib. ~3	1 / 50	+	±~-	
	<i>Act. type V</i>	Antib.	1 / 50	+	±~-	
	<i>Act. type V</i>	生 菌	1 / 50	-	+	
	<i>Act. type VI</i>	Antib.	1 / 50	±	±~-	
	<i>Bact. type III</i>	Antib.	1 / 50	-	±~-	
	<i>Bact. type III</i>	生 菌	1 / 50	±	+	
	<i>Bact. type IV</i>	Antib.	1 / 50	+	±	
<i>Eumycetes</i>	<i>Mucor sp.</i>	Antib.	1 / 50	+	-	
<i>Fungal</i>	<i>Tricholoma matsutake</i>	Antib.	1 / 50	±	-	
培地の種類	浜 田 培 地		常 法	+	-	
	改良浜田培地 (1)		イースト 2g / 1000ml	+	-	
	改良浜田培地 (2)		イースト 1g / 1000ml	+	-	
	マツタケ合成培地		常 法	-	-	

注. 効果の表示 +: 顕著な促進効果が認められる。
 +: 明らかに促進効果が認められる。
 ±: 少し促進作用があるように判定される。
 -: 促進効果を認めない。

4. 結 論

マツタケのシロが形成されるようなマツ林土壌内には、抗かび性等の抗菌性を有する放線菌類や細菌類が潜在的に多く生息していることを確認した。

中でも *Actinomyces III* ~ 1 などは、その抗菌性によってマツの根系及び周辺土壌などに住みついてくる菌根性きのこ類、糸状菌類などに対して制菌的ないし静菌的な拮抗作用を及ぼしていることを推測できる。又、マツタケ菌に抗菌性を示さなくて、他の菌類に静菌的な抗菌性を示す *Actinomyces V* 及び *Bacteria III* などの生息も認められ、シロ形成にあたって有利に作用しているものと考えられる。

このように、マツ林土壌内でマツタケ菌の繁殖に有害な菌類に対して拮抗的に作用していると推測して

いた放線菌類及び細菌類などの抗菌性がin vitro によって明らかとなった。

マツタケ菌の繁殖が可能なマツ林土壌内の環境は共存する放線菌類等の菌間抗菌性の影響によって形成される部分的な特定の微生物環境であると推定できる。これら、抗菌性を認めた菌株の菌学的な検討は行わなかったが、抗菌性菌類の生息と分布の変動に伴って、土壌内の微生物環境の変化していることは明らかである。

抗かび性菌類の利用方法の開発によって、マツ林及び人工土壌培地などにマツタケ菌を接種し、シロ形成を促すことが出来る土壌内微生物環境の調節も検討ができそうである。

抗菌性産生物質の利用によって、マツタケの培養菌糸を抗かび性化して抵抗性種菌化を図れる可能性もある。さらにマツタケ菌の生長促進を促す産生物質 *Act. IV*, *Bact. III* などの存在も明らかになりつつあり、併用効果が期待できる。

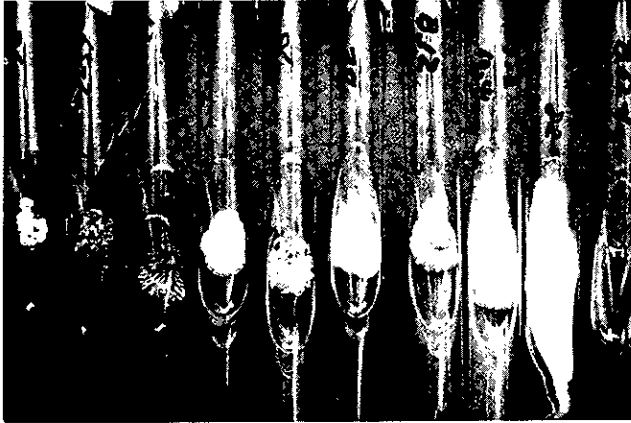
又、*Actinomycetes* III~1 は、植物等の土壌病原菌類に対しても選択的ながら制菌的な抗菌性が認められており、この利用についても、今後検討する価値があるように考えている。

しかし、本報告に述べた抗菌性はin vitroの結果であり、in vivo 検定及び天然マツ林土壌内のような嫌気性条件下などにおいても同様な抗菌性の再現が期待できるか否か、又、産生物質の抗菌スペクトラムや毒性などについてはさらに検討を要する。

5. 参考文献

- 1) (a) 小川真, "マツタケのシロ、アカマツ林における菌根菌、マツタケの微生物学的研究 I, 農林水産省林業試験場研究報告, No 272, P.79~121, (1975)
- (b) 小川真, "マツタケの菌根、アカマツ林における菌根菌、マツタケの微生物学的研究 II, 農林水産省林業試験場研究報告, No 278, P.21~49, (1975)
- (c) 小川真, "マツタケのシロ土壌と菌根における菌類相、アカマツ林における菌根菌、マツタケの微生物学的研究 III, 農林水産省林業試験場研究報告, No 293, P. 105~170, (1977)
- 2) 伊藤武, 小川真, "林内の植生手入れとマツタケシロの増加、マツタケの増殖法 II, 日本林学会会誌 VOL. 61, No 5, P. 163~173, (1979)
- 3) 鳥越茂, "腐植層のかきとり施業によるシロ数の増加、マツタケの増殖法 I, 兵庫県林業試験場研究報告, No24, P. 1~11, (1982)
- 4) 下川利之, "アカマツ林の下層植生と A 〇 層の除去がきのことと土壌生物に与える影響、マツタケ増殖技術開発研究 II, 岡山県林業試験場研究報告, No 5, P.41~53, (1984)
- 5) 林野庁, "林地土壌におけるマツタケのシロ形成促進条件の解明、マツタケの高度生産技術、食用きのこ類の高度生産技術に関する総合研究, 林野庁大型プロジェクト研究成果, P. 101~109, (1984)
- 6) 下川利之, "土壌微生物を利用した有害微生物の調節, 日本林学会関西支部大会, No34, P.65, (1983)
- 7) 長谷川武治, "微生物の新しい分類学, 東京, 講談, (1984)
- 8) 土壌微生物研究会, "土壌微生物実験法, 東京, 養賢, (1975)
- 9) Tonson, L. F. et al, "Methods for studying soil micro flora plant Disease Relationship. Burgess pub. Co. (1962)
- 10) 木本弘一郎, "岡山県の森林土壌、岡山県林業試験場, (1982)

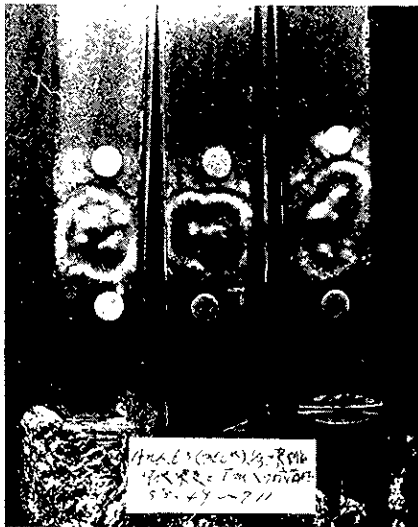
- 11) 住木諭介、抗生物質。上巻、東京、東京大学出版、(1961)
 12) 住木諭介、抗生物質。下巻、東京、東京大学出版、(1961)



図版1. アカマツ林土壌内に生息する
 放線菌及び細菌
 左から *Actinomyces*
 type.
 I, II, III, IV, V, VI
Bacteria type.
 II, I, III, IV



図版2. 放線菌type III-1の
Trichoderma sp.
 に対する抗菌性



図版3. 産生物質 (A. III-1) の
 マツタケ菌に対する抗菌性



図版4. 放線菌type III
 ~1の細菌に
 対する抗菌性
 右から
Act. III~1(上) ×
Bact. III(下)
 左
Act. III~1(上) ×
Bact. V(下)



図版 5. 放線菌typeⅢ-1の菌根性に対する抗菌性
右から *Act.* Ⅲ-1(上)×メシロシメジ(下)
Act. Ⅲ-1(上)×ハツタケ (下)
Act. Ⅲ-1(上)×ヌメリイグチ(下)



図版 6. 天然アカマツ根系への菌根菌の寄生状況



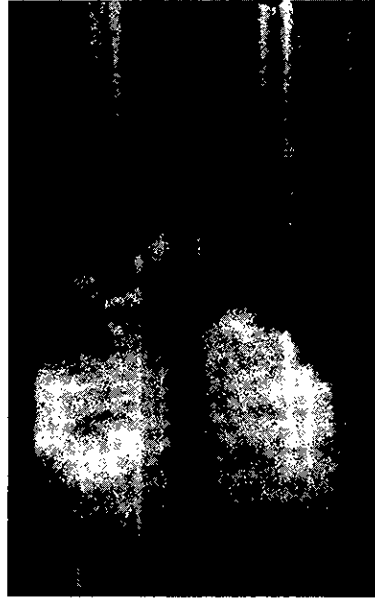
図版 7. 放線菌のマツ根系、菌根菌への影響
図版10のような根系に *Act.* Ⅳを散布接種し、約4カ月目の状態。



図版 8. 細菌のマツ根系、菌根菌への影響
図版10のような根系に *Bact.* Ⅲを散布接種し、約4カ月目の状態。



図版9. 放線菌typeⅢ～1(上)のナラタケ菌(下)に対する抗菌性

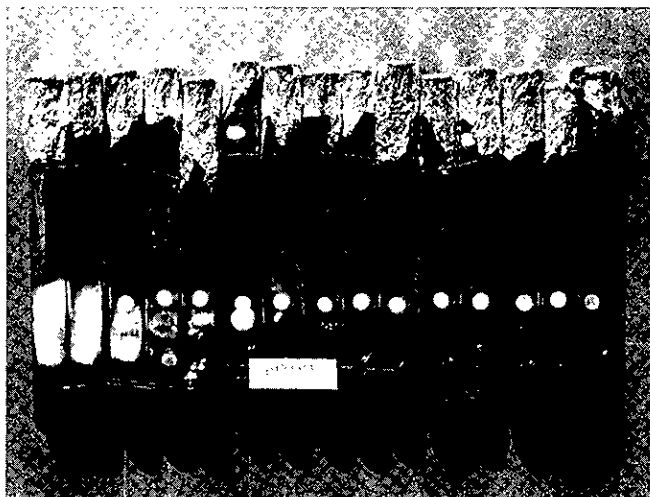


図版10. 放線菌の植物根腐病菌、フザリウム菌に対する抗菌性

右
Act. Ⅲ～1(上)×
Fusarium oxysporum(下)
左
Act. Ⅳ(上)×
F. oxysporum(下)



図版11. 放線菌typeⅢ～1が生産する産生物質の糸状菌の菌糸伸長阻止力
右から, *Trichoderma harzianum* T. koningii, *Penicillium* sp. type 1.2.3.4.5. 6. *Aspergillus* sp. type 1.2.3. *Scopulariopsis* sp. *Mortierella* sp. *Mucor* sp. *Spicaria* sp. *Pestalotia* sp.



図版12. 放線菌typeⅢ～1が生産する産生物質のきのこ類の菌糸伸長阻止力

右から、ホンシメジ、キシメジ、ニセマツタケ、
シャカシメジ、カキシメジ、ハナイグチ、ヌメ
リイグチ、テングタケ、マツタケモドキ、シロ
シメジ、キヒダタケ、カクミノシメジ、オオホ
ウライタケ、カワキタケ、オニイグチ