

(資 料)

アカマツ林内のマツタケのシロへの加温が, マツタケの菌糸量, 菌糸分布および子実体発生量に及ぼす影響*

成松 眞樹・山口 宗義**

Influence of heating to the “shiro” of *Tricholoma matsutake* on mycelium amount, distribution and fruiting body number in *Pinus densiflora* forest.

Maki NARIMATSU・Muneyoshi YAMAGUCHI**

要 旨

マツタケ発生林内の既存のシロに, オープントップチャンバーと小型のパネルヒーターを用いて加温した結果, 地温が上昇し, 上昇の程度は日照時間に応じた。加温効果は深さ 5 cm が 10 cm より大きく, 深さ 5 cm では 6 月に顕著であった。菌糸量はプロット間のばらつきが多く, 加温の効果が認められなかったものの, マツタケ菌糸の検出範囲は, 加温区が対照区を上回った。

キーワード: 加温効果, 地温, OTC, 定量 PCR

目 次

はじめに	12	2.3 マツタケ菌糸量の推移と加温の影響	16
1. 材料と方法	12	2.4 マツタケ菌糸の分布と加温の影響	16
1.1 調査地	12	2.5 子実体発生本数と加温の影響	17
1.2 加温区の処理	13	3. 考察	17
1.3 非加温区の処理	14	3.1 シロへの加温が地温に及ぼす効果	17
1.4 地温の測定	14	3.2 シロへの加温がマツタケの菌糸に及ぼす効果	17
1.5 土壌試料の採取	14	3.3 シロへの加温がマツタケの子実体発生本数に及ぼす効果	17
1.6 土壌からの DNA の抽出とマツタケ菌糸の定量	14	おわりに	17
1.7 データ解析	14	引用文献	18
2. 結果	15		
2.1 地温の比較	15		
2.2 加温がシロの地温に及ぼす影響	15		

* 本研究は, 農林水産技術会議委託プロジェクト「高級菌根性きのこ栽培技術の開発」で実施した。

** 国立研究開発法人 森林研究・整備機構 森林総合研究所

はじめに

マツタケ (*Tricholoma matsutake*) は経済的に重要な林産物である。2016年の岩手県のマツタケ生産量は20.7tで国内2位であり、国内生産量の29.8%を占める(農林水産省2017)。また、2012年～2016年の東京都中央卸売市場築地市場での岩手県産マツタケの平均単価は39,846円/kgで(東京都2017)、年により変動するものの、他の農産物と比較して高額である。マツタケは、その単価の高さから、発生地域周辺の住民の重要な収入源となっている(有岡1997)。しかし、施設栽培技術が確立されていないため、市場への出荷量(生産量)は森林からの発生量に規定され、不安定である。

マツタケはアカマツ (*Pinus densiflora*) 等との共生菌であり(小川1975)、菌糸は宿主樹木の細根に外生菌根を形成する(Yamada *et al.* 1999; Lian *et al.* 2006)。菌根からは菌糸が周囲の土壤に伸長し、菌根、菌糸および土壤は白色の堅密な塊(シロ)を形成する(浜田1953; 小川1975; Yamada *et al.* 1999)。

マツタケの生産量の安定化には、マツタケ未発生林への菌糸、菌根苗などの接種源の埋設(接種)による、新たなシロの形成が有効である。接種を成功させるには、接種源から外部に菌糸が伸長する条件の最適化が必要である。一般に菌の成長速度は温度に律速され、マツタケのシロの拡大速度も温度に応じて増大するため(Narimatsu *et al.* 2015)、シロの地温を上げることにより、菌糸量などが増大する可能性がある。また、菌糸量は子実体発生量に影響を及ぼすため(Narimatsu *et al.* 2015)、地温の上昇による子実体発生量の増大も期待される。そこで、マツタケ発生林内の既存のシロに加温し、菌糸量や子実体発生量を比較して、加温の効果を検討した。

1. 材料と方法

1.1 調査地

本研究は岩手県林業技術センターの四日市試験林(岩手県岩手郡岩手町、北緯39度56分、東経141度14分)のアカマツ林の一部で実施した(図1)。調査地内にはマツタケが発生し、子実体の発生位置は1994年から調査されている(Narimatsu *et al.* 2015)。斜面方位は南西、標高は約370m、傾斜は約20°である。調査地最寄り(南東約10km)の地域気象観測システム(アメダス)観測所(岩手県盛岡市

好摩、北緯39度52分、東経141度10分、標高205m)における年間平均気温は9.4℃、年間平均降水量は1145mm、最寒月平均気温は-3.1℃(1月)、最暖月平均気温は22.6℃(8月)である(気象庁2017)。

調査地のアカマツの樹齢は約90年、平均胸高直径は25.5cm、平均立木密度は981本/ha、平均胸高断面面積合計は52.6m²/haである。低木層ではマルバオダモ (*Fraxinus sieboldiana*) が優占し、他にコナラ (*Quercus serrata*)、オオヤマザクラ (*Prunus sargentii*)、アズキナシ (*Aria alnifolia*) などが出現する。

2016年4月19日に、マツタケの子実体が過去に集団的に発生した場所を3か所選定し、それぞれプロット1～3とした(図2)。各プロットで、2010年の子実体発生地点を結ぶ線からシロの進行の逆方向に5cm戻った地点に、上記の線と平行な線を引き、基準線とした(図3)。2010年の子実体発生位置を基準とした理由は、子実体の発生本数が同年に多

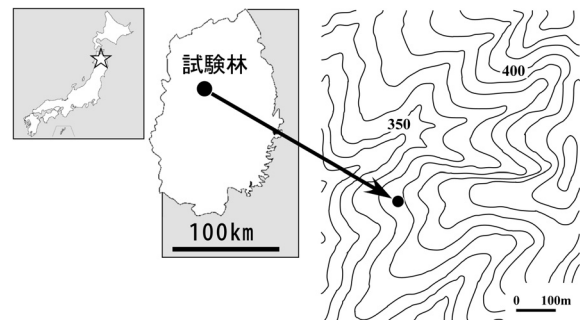


図1 調査地の位置

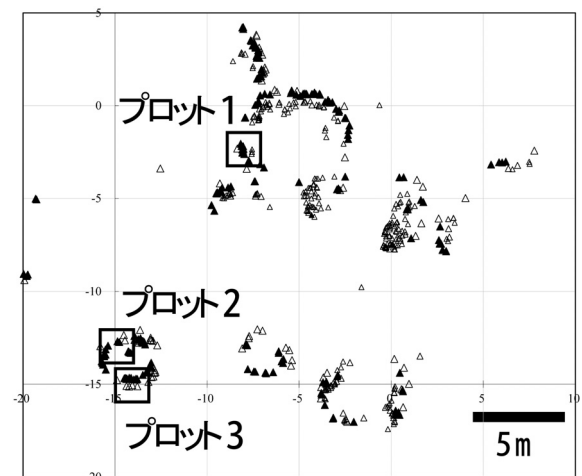


図2 調査プロットと子実体の位置

図中の▲は2010年の、△はそれ以外の年の子実体発生位置を示す。

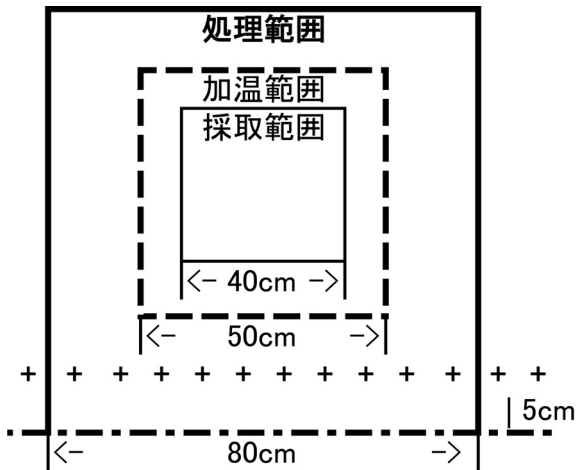


図3 処理範囲の設定

+ は 2010 年の子実体発生位置を，一点鎖線は基準線を示す。シロの進行方向は図の下方から上方である。

かったためである。基準線を 5 cm 戻した目的は，土壌試料の採取範囲(後述)の中央付近にシロを含ませることである。なお，調査地におけるシロの進行速度の推定値は，7.6 cm/年である(Narimatsu *et al.* 2015)。各プロットで，基準線を底辺とする1辺 80 cm(水平距離)の正方形を地表に設定し，加温区の処理範囲とした(図3)。また，加温区と同一のシロ上の隣接部位に，加温区と同様の基準線を設けて非加温区を設定した。

1.2 加温区の処理

処理範囲上にオーブントップチャンバー(OTC)を設置して，加温区とした(図4；図5)。すなわち，処理範囲の4隅にイボタケ(長さ 2.1 m，太さ 16 mm)を鉛直に立て，支柱とした。イボタケの下部は 50 cm，地中に差し込んだ。支柱の上端を別のイボタケ(長さ 1.0 m，太さ 16 mm)で接続し，地上高 1.6 m の角筒状の骨格を設置した。骨格の側面にはイボタケで筋違を設置した。イボタケの接続には，金属製の専用クリップ(クラインセッター，渡辺パイプ株式会社，東京)を用いた。得られた骨格の側面に農業用ビニルシートを金属製ダブルクリップで留め付け，OTCとした。OTC への日射量の増大を目的に，OTC 周辺の広葉樹の低木を伐採または枝払いした。

OTC内(処理範囲)の中央部 50 cm 四方に，出力 13W のパネルヒーター(以下ヒーター，モグリッチ L，みどり商会，東京)を2枚並べて敷設して，加温範囲とした(図3)。ヒーターへの給電は太陽光発

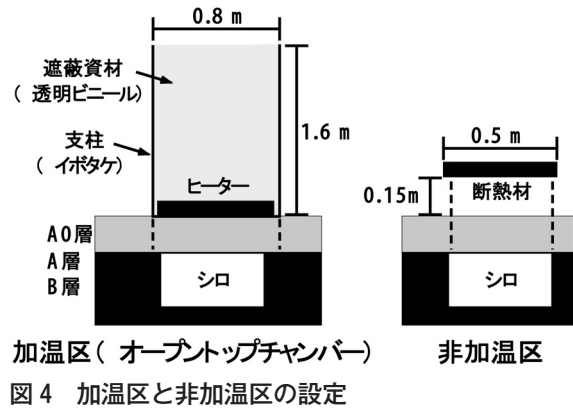


図4 加温区と非加温区の設定



図5 ソーラーパネル(プロット2，プロット3) 後方はオーブントップチャンバー(OTC)。

電システムによった。各プロットの近傍に単結晶太陽光発電パネル(以下ソーラーパネル，LP-100M-36H，株式会社 Loop，東京)を3枚，設置した(図5)。ソーラーパネルの設置角度(水平面とパネルの為す角度)は 40°とした。ソーラーパネルには，過充電や電流の逆流を防ぐためのコントローラー(Solar Amp B，株式会社電菱，東京)を介して防水ディープサイクルバッテリー(12V115Ah，SMF31MS-850，株式会社ナカノ，北九州市)を繋ぎ，バッテリーから正弦波インバーター(LP-12V500W50H，株式会社 Loop，東京)を介してヒーターへ給電した。以上の設置方法は，製品に添付の施工マニュアルに従った。OTC とヒーターの設置は 2016 年 5 月 19 日に行った。マツタケの子実体の発生を妨げないように，同年 9 月 7 日にヒーターを撤去した。なお，バッテリーが完全に放電し，ヒーターへの給電が停止した状態が，期間中に数回，確認された。

1.3 非加温区の処理

非加温区では、加温区の加温範囲に相当する範囲の直上 15 cm に、縦 50 cm×横 50 cm×厚さ 5 cm の押出法ポリスチレンフォーム断熱材(スタイロエース-II, ダウ加工株式会社, 東京)を設置した(図 4)。設置の目的は以下の 2 点である：(1)加温区の加温効果を明確にすること(2)加温区の OTC は上方を除く方向からの降雨を遮断するため、加温区と同様に降雨を遮断すること。なお、マツタケの子実体の発生を妨げないように、2016 年 9 月 7 日以降は断熱材を撤去した。

1.4 地温の測定

加温範囲を 10 cm のグリッド 16 個に分割し、グリッド交点の 5 点で地温を測定した(図 6)。測定深度は各点 5 cm と 10 cm、測定間隔は 60 分とした。測定開始日は 5 cm が 2016 年 4 月 26 日、10 cm が同年 6 月 7 日で、測定終了日はいずれも同年 11 月 30 日である。測定と記録にはサーモレコーダーミニ RT-32S(エスペックミック株式会社, 愛知県)を用いた。データの回収はサーモコレクター RTC-10(同)を用いて毎月 1 回、行った。

1.5 土壌試料の採取

菌糸の定量を目的に、土壌試料を 4 月、6 月、7 月および 10 月の下旬に採取した。加温範囲の地表面に目開き 5 cm のナイロン製の網を固定し、10 cm グリッドを 5 cm 四方の小区画に四分割した(図 6)。また、非加温区でも加温区と同様に採取範囲を設定した。各グリッドで各調査月に 1 小区画から試料を採取することにより、シロへの影響を抑えた。

各小区画で、A0 層直下から 5 cm の深さまで、約 3.5 mL の土壌を採取した。土壌の採取には、丸のみ(開口部 10 mm, Pfeil tools, Langenthal, Swiss Confederation)を用いた。採取後の穴には現地採取した同様の土壌を充填した。採取後の試料は保冷して実験室に持ち帰り、 -20°C で凍結して菌糸量の測定に供した。

1.6 土壌からの DNA の抽出とマツタケ菌糸の定量

土壌 DNA の抽出は Yamaguchi *et al.*(2016)の方法にしたがった。凍結乾燥された土壌試料に 0.6% スキムミルクを含有した 2% CTAB 液 650 μL を加

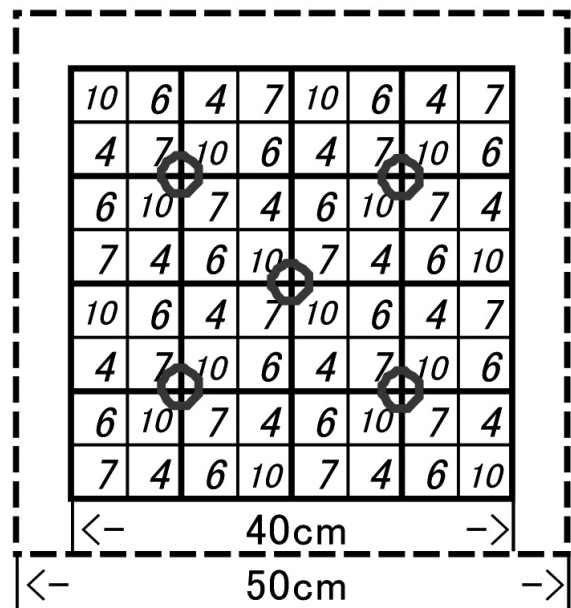


図 6 地温測定と土壌試料採取の位置

○は地温センサーの設置位置。太線はグリッド、細線は小区画を示し、数字は土壌試料の採取月、点線は加温範囲を示す。

え、 65°C で 1 時間攪拌しながら溶解後、750 μL のクロロホルム/イソアミルアルコール(24:1)で 2 回抽出し、上清を採取した。イソプロパノールで DNA を沈殿、乾燥後、滅菌水 100 μL に溶解し、抽出試料とした。抽出試料を鋳型 DNA として、ライトサイクラー 2.0(Roche, Basel, Swiss Confederation)を用いて qPCR を行い、菌糸量を算出した。qPCR の条件および菌糸量算出方法は Yamaguchi *et al.*(2016)の方法にしたがった。得られた菌糸量をプロット毎に平均して各調査月の代表値とし、解析に供した。

1.7 データ解析

プロット内の処理ごとに、5 か所、2 深度で毎時測定した地温のデータを、5 か所と 24 時間で平均して、当該プロット・処理・深さの日平均地温とした。さらに、日平均地温を調査月ごとに平均したものを、月平均地温とした。また、日平均地温を処理ごと、深さ別にプロット($n=3$)間で平均して処理平均地温を算出し、加温区と非加温区の処理平均地温の差を加温効果とした。

2. 結果

2.1 地温の比較

地温は加温区が非加温区を上回った。深さ 5 cm の処理平均地温は加温区が非加温区より高めに推移した(図 7)。深さ 5 cm の月平均地温は加温区で $5.9 \pm 1.8^\circ\text{C}$ (11 月, 平均値 \pm 標準偏差) $\sim 22.1 \pm 1.4^\circ\text{C}$ (8 月), 非加温区で $5.8 \pm 1.8^\circ\text{C}$ (11 月) $\sim 21.3 \pm 1.5^\circ\text{C}$ (8 月) であり(表 1), 各月で加温区が非加温区を上回った。測定期間中の処理平均地温も加温区が非加温区より高かった ($p < 0.01$, t 検定)。

同様な傾向は深さ 10 cm でも見られた(図 8)。月平均地温は加温区が高く, $6.9 \pm 1.4^\circ\text{C}$ (11 月) $\sim 21.3 \pm 1.0^\circ\text{C}$ (8 月), 非加温区で $7.0 \pm 1.7^\circ\text{C}$ (11 月) $\sim 20.5 \pm 1.2^\circ\text{C}$ (8 月) であった。測定期間中の処理平均地温も加温区が非加温区より高かった ($p < 0.01$, t

検定)。

5 cm と 10 cm の処理平均地温の相関は, 加温区, 非加温区ともに $r > 0.99$ と高かった。また, 5 cm と 10 cm の処理平均地温の差は, 6 月 \sim 8 月に加温区で非加温区より大きかった(図 9)。

2.2 加温がシロの地温に及ぼす影響

加温効果が各月で認められた。加温効果は 5 cm で $0.1 \pm 0.2^\circ\text{C}$ (11 月) $\sim 1.3 \pm 0.6^\circ\text{C}$ (6 月), 平均加温効果は $0.7^\circ\text{C}/\text{日}$ であり(図 10), 加温効果の期間中の積算値は 167°C 日であった。また, 10 cm の加温効果は $0.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ (11 月) $\sim 0.7 \pm 0.2^\circ\text{C}$ (8 月) であった。加温効果は 5 cm が 10 cm より大きく, 5 cm と 10 cm の平均加温効果の差は, 6 月 \sim 8 月の各月で有意だった ($p < 0.01$, t 検定, 図 10)。

加温効果は日毎に変動した(付図 1)。6 月の 5 cm

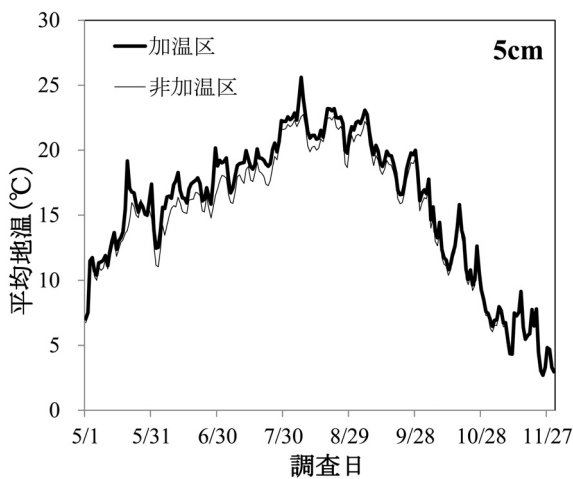


図 7 深さ 5 cm における処理平均地温の推移

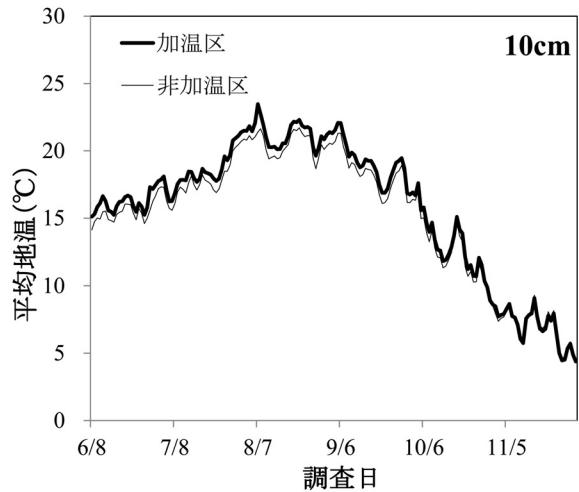


図 8 深さ 10 cm における処理平均地温の推移

表 1 深さ 5 cm の月平均地温の比較

調査月	平均値 \pm 標準偏差 ($^\circ\text{C}$)			
	加温区		非加温区	
5	13.5	± 2.9	12.7	± 2.5
6	16.5	± 1.8	15.1	± 1.7
7	19.4	± 1.5	18.4	± 1.7
8	22.1	± 1.4	21.3	± 1.5
9	19.6	± 2.0	18.9	± 1.9
10	12.5	± 2.8	11.9	± 2.7
11	5.9	± 1.8	5.8	± 1.8

各月で処理間に有意差 ($p < 0.05$, t 検定)。

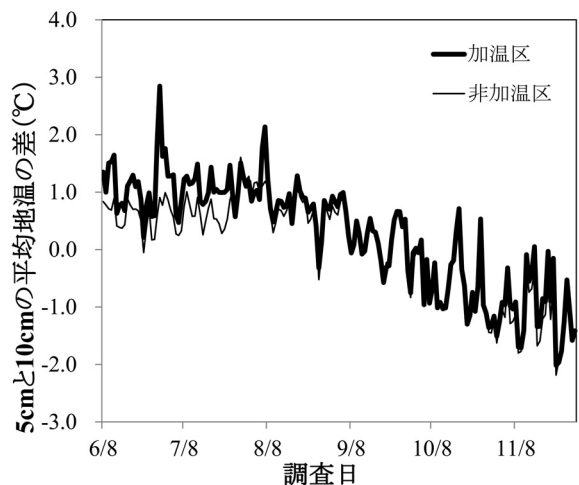


図 9 5 cm と 10 cm の処理平均地温の差

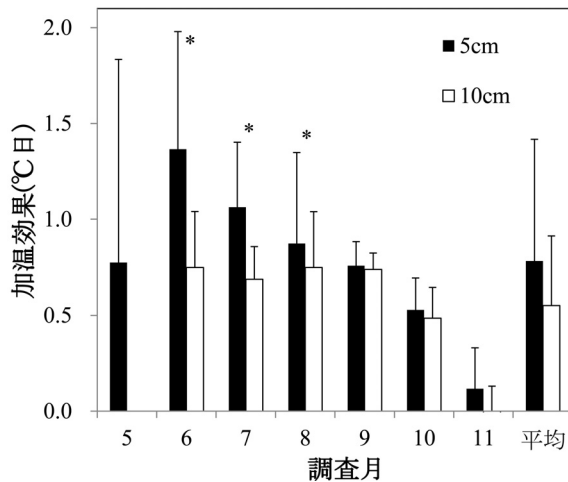


図10 月別・深さ別の加温効果

*は各調査月における深さ間の有意差($p < 0.05$, t検定) エラーバーは標準偏差。

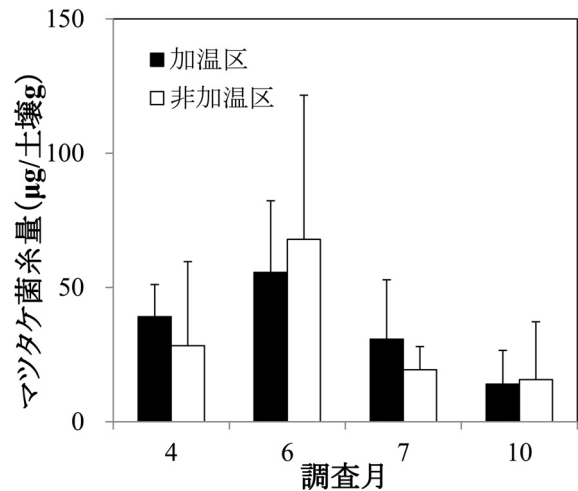


図12 各調査月・各処理のマツタケ菌糸量

エラーバーは標準偏差。

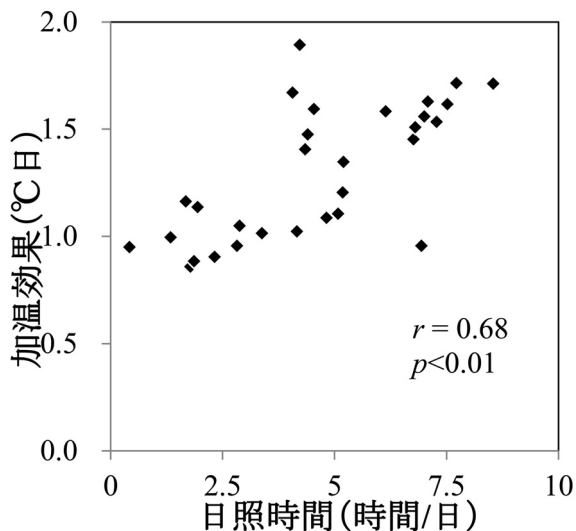


図11 6月の5cmにおける加温効果と日照時間
いずれも5日間の移動平均値

における加温効果と日照時間(いずれも5日間の移動平均値)には、明瞭な正の相関がみられた($r = 0.68$, $p < 0.01$: 図11)。

2.3 マツタケ菌糸量の推移と加温の影響

菌糸量は月毎に変動した。加温区、非加温区ともに菌糸量は6月が最大で、7月に減少した(図12)。平均菌糸量は加温区で $14.0 \pm 12.5 \mu\text{g/g}$ (10月) ~ $55.5 \pm 26.7 \mu\text{g/g}$ (6月)、非加温区で $15.6 \pm 21.5 \mu\text{g/g}$ (10月) ~ $67.9 \pm 53.7 \mu\text{g/g}$ (6月)であり、同一処理でもプロット間のばらつきが大きかった。加温区と非加温区の平均値には各月で有意差は認められなかった($p > 0.05$, t検定)。

表2 菌糸量の増加率

平均値 ± 標準偏差

算出対象期間	加温区		非加温区	
4月~6月	1.4	±0.6	6.2	±4.0
6月~7月	0.4	±0.3	1.1	±1.2
7月~10月	10.2	±13.9	0.6	±0.8
4月~10月	0.4	±0.3	0.2	±0.3

菌糸量の変動に加温の効果は認められなかった。同一のプロットにおける菌糸量の増加率は、4月~6月と6月~7月で非加温区が加温区を上回り(表2)、7月~10月は加温区が非加温区を上回ったが、いずれの期間でも処理間で有意差は見られなかった。また、4月から6月の菌糸量の増加率と、5月から6月の積算地温には有意な相関は見られなかった。さらに、4月から10月の菌糸量増加率は、同期間中の積算地温に応じて増大したが、相関は有意ではなかった($p > 0.05$)。

2.4 マツタケ菌糸の分布と加温の影響

菌糸の分布は加温区で拡大した。マツタケの検出グリッドの個数は、加温区が16グリッド中 4.3 ± 4.1 個(7月) ~ 10.3 ± 2.5 個(10月)、非加温区が 3.6 ± 5.5 個(10月) ~ 6.6 ± 2.5 個(7月)であり(表3, 付図2)、7月を除き加温区が非加温区を上回った($p < 0.05$, t検定)。7月から10月の検出グリッド数の増加率も加温区が2.3、非加温区が0.5と、加温区が上回り(表3)、加温区で10月にマツタケの分布が拡大する傾向が見られた。

表3 マツタケの検出グリッド数

調査月	平均値 ± 標準偏差	
	加温区	非加温区
4*	7.3 ± 2.3	4.6 ± 3.7
6*	9.0 ± 2.0	4.0 ± 2.6
7	4.3 ± 4.1	6.6 ± 2.5
10*	10.3 ± 2.5	3.6 ± 5.5
平均	7.7 ± 0.9	4.7 ± 1.4
7月から10月の増加率	2.3	0.5

*は各調査月における処理間の有意差 ($p < 0.05$, t検定)。



図13 OTC内で発生したマツタケの子実体

2.5 子実体発生本数と加温の影響

子実体発生本数には、加温の効果が認められなかった。各処理で10月に子実体が発生した。このうち加温区では、OTCの内部で発生が見られた(図13)。子実体発生本数の平均値は、加温区が 8.1 ± 9.5 本/m²、対照区が 6.2 ± 10.8 本/m²で、処理間に有意差は認められなかった ($p > 0.05$, t検定)。

3. 考察

3.1 シロへの加温が地温に及ぼす効果

今回の実験から、OTCとヒーターを用いた加温により、地温が上昇することが明らかになった。また、加温効果はヒーターを撤去した9月以降にも見られたことから(図10)、OTCのみでも加温効果を有すると考える。

加温効果は深さ5 cmが深さ10 cmより高く、5 cmと10 cmの地温には高い正の相関が見られた。これらのことから、加温により地表面の温度が上昇して地温も上昇し、上昇の影響(加温効果)は少なくとも深さ10 cmまで及ぶと推察される。

3.2 シロへの加温がマツタケの菌糸に及ぼす効果

菌糸量には加温の影響が見られなかった。マツタケの菌糸伸長速度の至適温度は、20~23℃とされる(浜田1974)。菌糸量が最も多かった6月において、地温は加温区の深さ5 cmでも20℃に満たない日が多かった(図7)。このことから、今回の加温効果は、菌糸量の増大には不十分であったと考える。加温効果を向上させるには、OTCを温風導入型(Chiba and Terao 2014)に改良することや、ソーラーパネルの増設による発電量の確保が有効と思われる。さらに、日中はOTCによる加温も期待できるため、タイマーを設置してヒーターへの給電時間を夜間に限定することで、バッテリーに蓄えられた電気の利用効率の向上が期待できる。

菌糸量とは異なり、検出範囲は加温区で7月から10月に掛けて増大した。菌糸の定量に用いたPCRマーカーの増幅対象は核内のDNAであり、菌糸量は細胞数に比例する。一方、菌糸が伸長すれば検出される箇所数は増加する。菌糸の1細胞あたりの長さ(隔壁間距離)は菌叢上の部位で異なることが、腐生菌で知られる(Boddy and Rayner 1983)。また、マツタケ菌糸の隔壁間距離は伸び始めの菌糸で長いとされる(小川1991)。菌糸の細胞数と隔壁間距離の関係が、処理間や調査月間で異なったために、菌糸量は同程度でも、菌糸の検出範囲に差異が生じた可能性があるが、加温との因果関係は不明である。

3.3 シロへの加温がマツタケの子実体発生本数に及ぼす効果

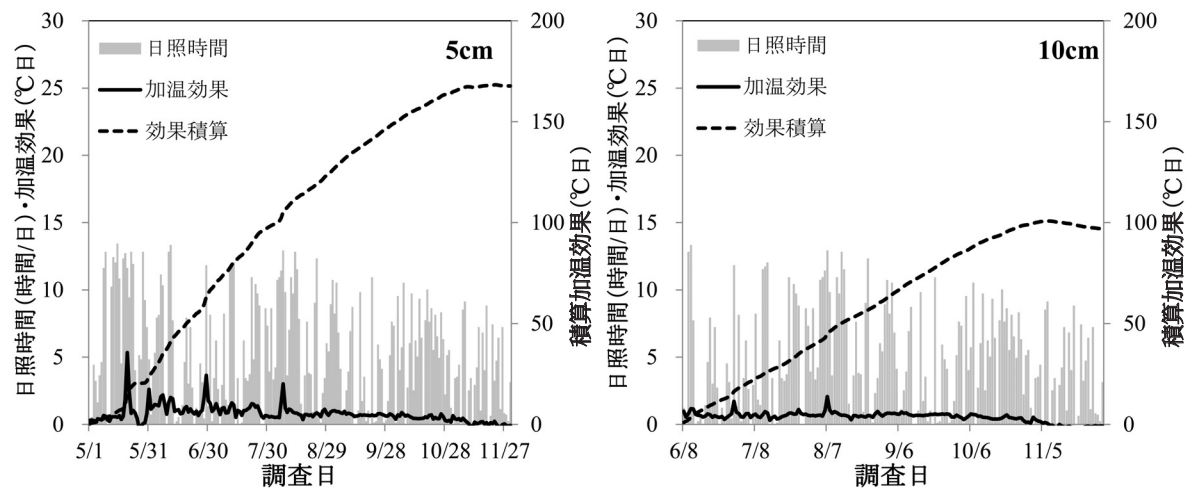
プロットあたりの子実体発生本数は、処理間で同程度であった。子実体発生量は菌糸量に応じて増加することが、シイタケで知られる(篠田ら2005)。今回の実験で、子実体発生時期前に相当する7月の菌糸量は処理間で同程度であったために、子実体発生本数に差が見られなかったと推察される。

おわりに

マツタケ発生林内の既存のシロに、被覆、加熱により加温した結果、地温は日照時間に応じて増大した。マツタケの菌糸量には加温の効果が認められなかったものの、菌糸の検出グリッド数や、その増加率は、加温区が対照区を上回った。加温の開始時期や、加温の翌年度以降への影響は、今後の課題である。

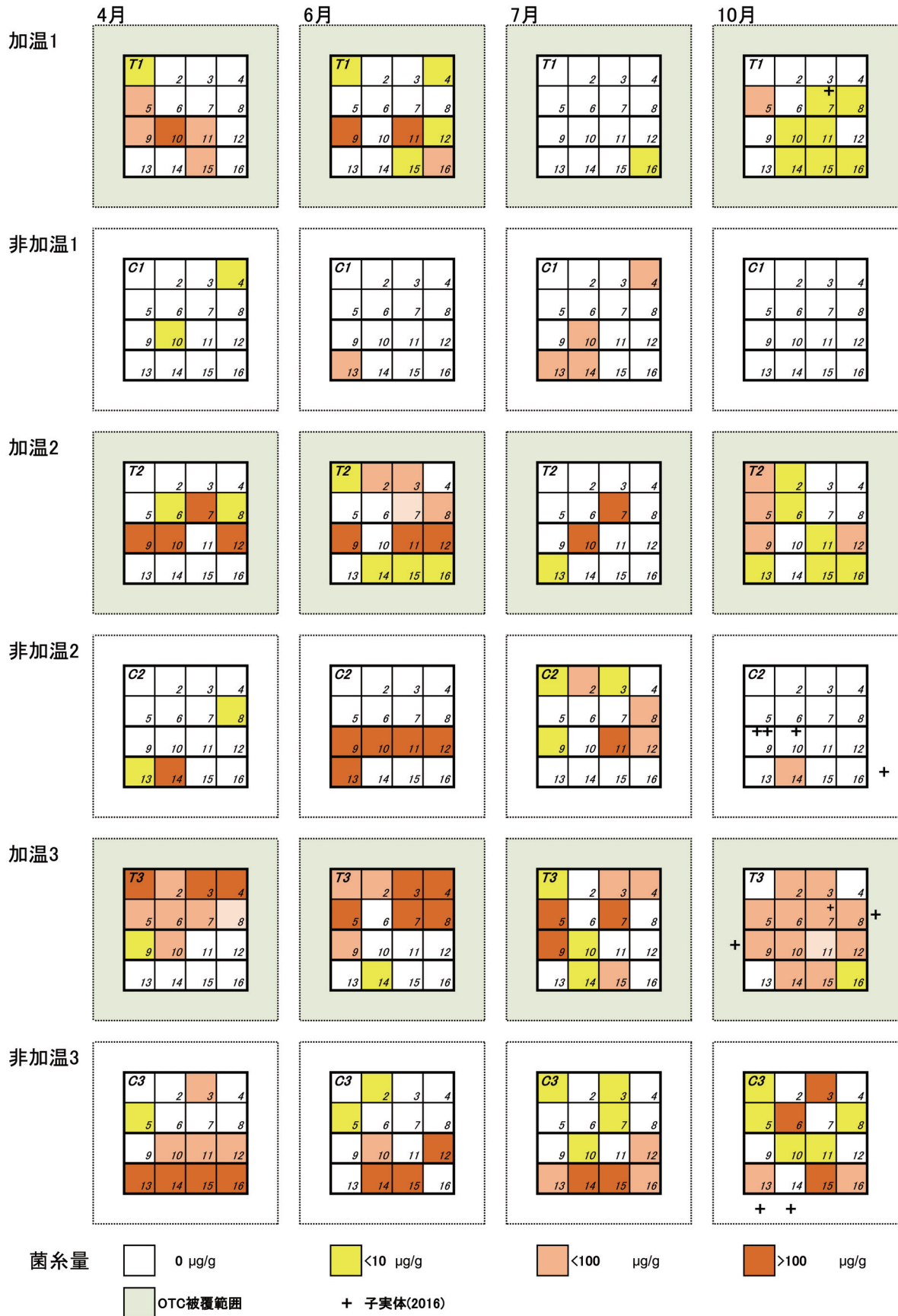
引用文献

- 有岡利幸(1997)松茸. 法政大学出版局. 東京
- Boddy, L. and Rayner ADM.(1983)Mycelial interactions, morphogenesis and ecology of *Phlebia radiata* and *P. rufa* from oak. Transactions of the British Mycological Society 80: 437-448.
- Chiba, M. and Terao, T.(2014)Open-top chambers with solar-heated air introduction tunnels for the high-temperature treatment of paddy fields. Plant Production Science 17: 152-165.
- 浜田稔(1953)マツタケ. 自然 8: 56-64.
- 浜田稔(1974)マツタケ—分布, 研究の現状と将来の展望. 醗酵協会誌 32: 458-462.
- 気象庁(2017)アメダスデータ
- Lian, C., Narimatsu, M., Nara, K. and Hogetsu, T. (2006) *Tricholoma matsutake* in a natural *Pinus densiflora* forest: correspondence between above- and below ground genets, association with multiple host trees and alteration of existing ectomycorrhizal communities. New Phytologist 171: 825-836.
- Narimatsu, M., Koiwa, T., Masaki, T., Sakamoto, Y., Ohmori, H. and Tawaraya, K. (2015) Relationship between climate, expansion rate, and fruiting in fairy rings (“shiro”) of an ectomycorrhizal fungus *Tricholoma matsutake* in a *Pinus densiflora* forest. Fungal Ecology 15: 18-28.
- 農林水産省(2017)平成 28 年特用林産基礎資料
- 小川眞(1975)アカマツ林における菌根菌—マツタケ—の微生物生態学的研究 I マツタケのシロ. 国立林業試験場研究報告 272: 79-121.
- 小川眞(1991)「マツタケ」の生物学, 補訂版. 築地書館. 東京
- 篠田茂・本間広之・松本則行・阿部一好・品田隆昭・武田綾子(2005)シイタケ菌床栽培における栽培管理技術の高度化試験—培地重量の違いが子実体の径級別収量に及ぼす影響について—. 新潟県森林研究所研究報告 46: 39-44.
- 東京都(2017)東京都中央卸売市場年報
- Yamada, A., Kanekawa, S and Ohmasa, M (1999) Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* on *Pinus densiflora*. Mycoscience 40: 193-198.
- Yamaguchi, M., Narimatsu, M., Fujita, T., Kawai, M., Kobayashi, H., Ohta, A., Yamada, A., Matsushita, N., Neda, H., Shimokawa, T., Murata, H. (2016) A qPCR assay that specifically quantifies *Tricholoma matsutake* biomass in natural soil. Mycorrhiza 26: 847-861.



付図1 日照時間と加温効果の推移

左: 深さ 5 cm, 右: 深さ 10 cm



付図2 マツタケ菌糸検出グリッドの推移

