

# アカマツを利用した菌根性きのこの栽培

藤原 直哉

## Cultivation for mychollyzal fungi by Japanese red pine

Naoya FUJIWARA

### 要 旨

藤原直哉：アカマツを利用した菌根性きのこの栽培 岡山県農林水産総合センター森林研究所 研報26：29 - 43 (2010) マツタケ等菌根性きのこの栽培を目的として、人工的にシロを形成させる試験を行った。アカマツ苗木の根株にフィルムで被覆したマツタケの培養菌糸を接触させて埋設したところ、1, 2年生苗木の細根はよく発根したが、感染は確認できなかった。ホンシメジ、アマタケ、ショウロでは、苗木を2回ポットに植え替えることで初期感染が確認できた。また、竹炭を土壌に少量混合することで、保水性を向上させることができた。マツタケの発生量は、マツ林の資源量と正の相関が高いことが明らかになった。

キーワード：菌根性きのこ、マツタケ、シロ、胞子、アカマツ

### I はじめに

岡山県内の一部の中山間地では、マツタケを重要な振興作目として位置づけている。1950～1980年代の最盛期には県内全域でマツタケが収穫され、最大で2,739tの生産量があった(岡山県 2007)。しかし、寄主であるアカマツの激減によってマツタケの生産量、生産額はともに減少し(図-1)、振興作目として維持する生産者の努力が続いている。

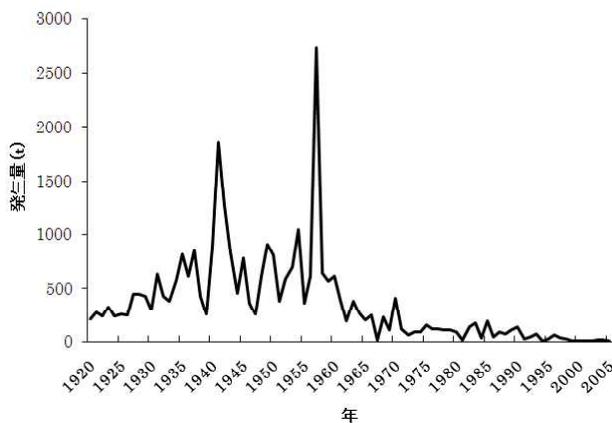


図-1 岡山県におけるマツタケ生産量の推移

この様なマツタケ生産量減少への対策として、若齢アカマツ林の環境を貧栄養状態に調整し、マツタケの生育適地を維持する環境改善活動が各地で取り組まれている(吉村 2010)。

県森林研究所では、マツタケ発生の糸口となる菌根の形成や、さらに菌根の集合体である「シロ」の形成に取り組んでいるが、現在の問題点として、マツタケ菌糸を培養した接種源に対する昆虫や土壌微生物による分解被害が挙げられる。また、感染した菌根が「シロ」へ発達

するには、より多くの新根を確保する必要があると考えられるため、断根処理によって発根を促進したアカマツ苗木を植栽し、バイオマスプラスチックを利用した接種源を埋設し、感染試験の効果を検証した。

別にシロの乾燥に対する改善方法として、ごく身近な材料であるタケの利用を検討した。近年、利用形態の変遷に伴う竹材の需要低下から、放置竹林の拡大の影響が懸念されている(内村 2005)。これらの竹林は、食用タケノコを採取する他に、建築材料や生活用具に利用されてきた。この竹材利用の一つに大型のモウソウチクやマダケを材料とした竹炭が挙げられる。この中で内村は、竹炭は多孔質な素材であることから、水質浄化や土壌改良、消臭剤など多くの分野で利用されていると記述している。このうち土壌改良剤としては、酸性土壌の中和、保水性や通気性の向上を目的として畑地に施用されている(菅原 1995)。古くからきのこの発生している林地に炭を埋設し、土壌の理化学性を改良するなど、ショウロやホンシメジなど野外に発生する菌根性きのこの栽培に利用され、増産効果が認められている(伊藤・藤田 1992, 衣川・小川 2000, 小川 2007)。しかし物理的な性質については未だに曖昧な点が多く、特に竹炭の野外林地での施用については、議論の余地が残されている。そこで、マツタケ等菌根菌の栽培への応用を視野に入れ、簡易的に製造・破碎した竹炭の性質について粒度と保水性やpHの関係を調査し、林地の土壌改良剤として竹炭の利用について検討した。

マツタケに関するもう一つの取り組みとして、県内のマツタケ発生適地の諸条件に関し、一定の判断基準を得るために、統計的手法によって子実体の発生量に相関のある要因と土壌条件を推測した。

特に秋期の少雨・乾燥傾向によるマツタケ子実体の発生不良や生育不良の傾向がみられ、森林所有者からも従来の増産方法に関して、現在の気象への対応等改善の要望が強いため、その対策を試みた。

さらに、他の菌根性きのこのホンシメジ、アマタケ、ショウロについて、簡易な感染苗木の育成技術を開発したので報告する。

この研究は、主に2007～2009年の単県課題「アカマツを利用した菌根性きのこの栽培」と、2008年の単県課題「マツタケの発生環境制御技術の開発」で実施した。

## II 材料と方法

### 1. 感染試験

感染試験は、マツタケ、ホンシメジ、アマタケ、ショウロを対象とした。マツタケの感染試験では、継代培養した二次菌糸を、植物培養用試験管にパーミキュライトを支持体とする種菌用培地（表-1）10mlに接種し、気温24℃、暗黒下で30日間培養した。この培養菌糸塊を直径2cm程度に分割し、滅菌したポリ乳酸を基材としたバイオマスプラスチック製袋（猿川製）を8×8cmに加工したフィルムで被覆、成型し、苗木接種用の種菌とした。

表-1 種菌の培地組成

1/10 PDA培地
HYPONEX 0.5g/l

表-2 年度別アカマツ苗木の植栽本数（本）

種名	2007	2008	2009	合計
マツタケ	30	100	50	180
ホンシメジ	30	260	50	340
アマタケ		45	30	75
ショウロ		15	30	45

苗木については、所内ほ場（pH 7.0）で育成した抵抗性アカマツの1, 2, 3年生の各生育段階の苗木を2月中旬に掘り取り、既に形成されている菌根を鋏で切断して菌根の除去と断根処理を行い、3月下旬まで野外のまさ土（pH 7.0）に仮植し、種菌を新根部に接触させた状態でアカマツ林内に植栽した。その後、形成された菌根については、DNA抽出後、シーケンスによってDNA配列を明らかにし、データベースと照合した。

植栽地として、樹齢30年前後のアカマツ林を試験地として県内6ヶ所設定し、アカマツ苗木を美咲町北、赤磐市暮田等3月下旬に植栽した（表-2）。植栽時には、植穴を直径30cm、深さ30cm程度に掘り下げ、アカマツ苗木の根株周辺に作成した上記の種菌を1～5個ずつ設置して埋め戻した。

種菌を接種して6ヶ月後にアカマツ苗木を掘り上げ、それらのうちマツタケ菌がアカマツに感染したときに形成される黒褐色で二叉状の特徴を持った菌根が形成されている菌根については、DNA判定に供試した。

次にホンシメジの感染試験では、1/10に希釈したMalt寒天培地を、オートクレーブ（121℃、10分間）で滅菌後、シャーレ（直径9cm）に30mlずつ分注し、冷却固化し、継代培養した二次菌糸（系統名：中央96、暮田4）を接種し、24℃暗黒下で培養した後、培養した菌糸をそのまま苗木接種用の種菌とした。

苗木については、マツタケと同様に1年生アカマツ苗木を1月にはほ場から掘り上げ、既に形成されている菌根を鋏で除去し、断根処理を行った後に、地上部と根株の長さを1mmスケールの物差しで計測後、まさ土を入れた小型ポット（丸形、径9cm）に移植した。このポット苗の発根を促進する目的で4月中旬まで、ポット内の温度を自動温度記録計（AM-8000 安立計器製）で測定しながら、温室内で育成した。1月の光条件と、温室効果による温度上昇によって、アカマツ苗木の休眠は人工的に打破され（永田 1969）、発根を開始する。今回考案した菌根菌用の感染システム（仮称：二段ポット苗木法）は、このアカマツの性質を利用し、細根の切断部から発生した新根が種菌に接触することで、短期間のうちに菌根菌の感染を促進することを目的としている。

接種方法については、4月中旬に苗木を小型ポットから外し、小型ポットの底部に伸長、集合した新根部に、前述の種菌各1個を接種した後、別のポット（丸形、径16.5cm）に移植して6月中旬まで育成し、ホンシメジ菌糸を細根に感染させた（図-2）。

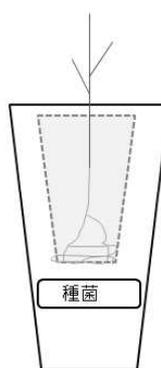


図-2 二段ポット苗木法の模式図

植栽方法については、2009年の4～6月中旬に所内試験地、赤磐市暮田試験地のアカマツ林内、井原市東三原地内のアカマツ林内の林道にポット感染苗木を移植した。またホンシメジ感染苗の作製にあたり、新根へのホンシメジ菌糸の感染効率を確認するために、ほ場の土壌中から頻りに検出されるヌメリイグチの菌糸について、

各3菌株ずつPDA寒天培地上での菌糸伸長量を測定した。また、30日間対峙培養を行った。アマタケ・ショウロの試験は、まず種菌の作成方法、苗木の育成方法、接種方法は、ホンシメジに準じた。植栽方法は、所内3×3mの方形試験地を設定し(図-3)、小型のバックホウ(日立建機製EX12-2, 0.04m<sup>3</sup>)の排土板で表土30cmを剥ぎ取った後、2009年4~6月下旬にホンシメジに準じポットで育成した感染苗木を植栽した。



図-3 バックホウで整地した試験地

## 2. 土壌水分量の現況調査

久米郡美咲町試験地と和気郡和気町地内の県自然保護センター試験地内に点在するマツタケシロ内部の地表5cmの土壌を8~10月の間随時20ヶ所を採取し、各10gを105℃、3時間の条件で乾燥した後、デシケーター内で放冷後、分析天秤(Mettler製 AT200)で絶乾重量を測定し、含水率を算出した。

## 3. 土壌水素イオン濃度の現況調査

上記の試料各10gにイオン交換水を50ml入れて攪拌し、pHメーター(YOKOGAWA製 PH82)で数値が安定するまで測定した。

## 4. マツタケシロの庇陰試験

美咲町地内のマツタケ試験地で、2008年9~10月まで既存シロの上部に遮光シート(商品名ダイオミラー、遮光率70~75%)を敷設し、自動温度記録計(安立計器製

AM-8010E, 温度センサー: 3.2E-J1M1)で気温と地温をシロ3ヶ所で1時間ごとに、土壌深5cm, 10cm, 15cmと3段階で測定し、平均値を求めた。

## 5. マツタケシロの土壌かん水試験

マツタケの発生刺激は、台風に伴う多量の降雨による水分供給と地温低下、日光の遮断によってもたらされると考えられる。そのため全国各地の研究機関によりシロ

周辺へのかん水試験が試みられた(吉村 2004)が、土壌の緊密度の高さや土壌表面の撥水性によって浸透が阻害される。ここでは土壌の撥水性を改善し、マツタケシロへの水分供給を可能とするため、以下のとおり素焼きの鉢の透水性を利用したかん水方法を試みた。

美咲町試験地に2009年9月中旬~10月下旬の間、素焼きの10号植木鉢(口径30cm, 高さ25cm, 容量5l)をシロの周辺に埋設し(図-4)、植木鉢の壁面から滲出する水分を土壌中に浸透させながら、週1回の頻度で水道水を植木鉢に供給しながら減少量を測定した。



図-4 植木鉢を用いたかん水方法

## 6. マツタケシロの土壌改良用竹炭の保水試験

竹炭の材料は、2007年12月に岡山県勝田郡勝央町植月中地内の森林研究所(標高150m)敷地内に生育する3年生のモウソウチク(地際径12cm)を伐採し、翌年5月まで屋内で自然乾燥によって含水率を低下させた後、ナタで小割りし、長さ60cm, 幅3~5cmに調整した。

モウソウチクの炭化は、岡山県森林研究所で開発した簡易軽量炭化炉(簡単スミヤケール)を使用し約6時間で炭化させ、冷却後出炭した。

未炭化の材料を除去した後、木炭精煉計(FA56型 三陽電気製作所製)のA領域で精煉度を測定し、精煉度7.0~9.0の竹炭を20lの缶(径285mm×高さ360mm)に入れて金属製ハンマーで往復落下させて破碎し、試験用ふるい(東京スクリーン製)を用いて粒度を1mm未満, 1, 2, 4, 8mm超過の5段階に分別した。

次に粒度別保水試験として、SAC工法サンドクッション保水性試験(HP)を一部改変して計測した。定法ではフィルターとしてろ紙を使用するが、粒度の小さい竹炭では目詰まりを起こすため、網目0.5mmの金属製網に変更した。

このうち粒度2mm, 1mm, 1mm未満の竹炭については、上記試験とは別に土壌に竹炭を添加した場合の保水試験を行った。2008年9月25日に野外試験地(岡山

県久米郡美咲町内)のマツタケシロ周辺土壌(以下森林土壌)を採取し、粒度1mmの竹炭(以下1mm竹炭)を10~50%添加し、全量を100gとして3反復で試験した(表-3)。

また野外林地で保水力の向上を目的として、マツタケシロ周辺に客土した状態を想定し、森林土壌に土壌改良剤として1mm竹炭を15%(W/W)添加し、底部に直径5mmの排水孔を20個開けたプラスチック製容器(14.0×19.5×4.5cm)に混合土壌を1kg充填し、水道水を浸潤させて、1ヶ月間重量を3反復で測定した。この時、土壌の乾燥を防ぐため、ポリエチレン製の食品包装用ラップフィルム(以下、ラップフィルム)でプラスチック容器の上部開口部を被覆し、ラップフィルムの被覆効果を調べた。

表-3 竹炭の添加量

添加率 (%)	1mm竹炭 (g)	シロ土壌 (g)
10	10	90
20	20	80
30	30	70
40	40	60
50	50	50

次に、1mm竹炭を洗浄した時の水素イオン濃度の変化を計測した。竹炭の洗浄には水道水(pH7.0)を使用し、pHは土壌試験に準じ(河田・小島 1979)、pHメーター(YOKOGAWA製 PH82)を用いて3反復で計測した。測定時の試料と、水道水の体積比は1:5とした。また前述の保水試験と同様に森林土壌に1mm竹炭を添加した場合のpHの変化を3反復で計測した。

また1mm竹炭を9cmシャーレのPDA培地に5~50%(W/W)で添加しpHの変化を測定し、さらにマツタケ、ホンシメジ、アマタケ3種の菌根菌をPDA培地に接種して気温24℃、暗黒下で60日間培養後3反復で菌糸伸長量を測定し(表-4)、1mm竹炭の影響を調査した。

表-4 菌根菌の由来

種名	採集年	採集場所
マツタケ	1977	岡山県井原市美星町
ホンシメジ	1996	久米郡美咲町
アマタケ	2007	赤磐市

### 7. RAPD法による系統判別方法

接種試験に供試したマツタケ菌株の判別には、多型分析法のうちホンシメジの菌株判別に用いられるRAPD法に準じて行った(井上 2005)。具体的な方法を以下に記述すると、マツタケの種判別のために抽出・精製した

DNAをPCR増幅を行って電気泳動を行った。このうち長時間を要するPCR増幅のプログラムについては改変し、白インゲンマメの分析方法である紙谷ら(2004)の報告に準じて効率化を図り、プライマーは、表-5を使用した。DNA抽出は既報(藤原 2007)に従い、PCR増幅したDNAの泳動には、DNAの分離能が高いDGGE法を用いて電気泳動を行い、その泳動パターンを比較した。

DGGE(濃度勾配ゲル電気泳動)法については、市販のD-code(Bio-rad製)を用いて8%・40~60%濃度の濃度勾配ゲルを作成し、TAEの水温を60℃に保持した状態で、75V、16時間電気泳動した。その後、ゲルをエチジウムブロミドで染色し、UV照射下で泳動パターンを撮影して比較した。

表-5

名称	配列
Ls-1	TCGGCGATAG
Ls-2	TCTGTGCTGG
Ls-3	AGCCAGCGAA
Ls-4	GTTGCGATCC

ホンシメジについてはマツタケに準じたが、電気泳動方法については、通常の1.2%ゲル(Lonza製NuSieve GTG Agarose)泳動とした。

### 8. マツタケ発生量に影響を与える因子の推定

マツタケ発生量と相関が高い要因を大まかに把握するために、気温、降水量、マツの資源量(岡山県 2007)について、1980~2007年までの27年間のデータのうち、樹齢ごとのマツ林面積の増減とマツタケ発生量との関連について、多変量解析の因子分析と重回帰分析を無料ソフトのSSDAS(山田 2005)により検証し、マツタケ発生量に重要な影響を与える因子の相関を分析した。

## III 結果と考察

### 1. 感染試験

掘り起こしたアカマツ苗木における新根の伸長量は、1年生苗木では10~15cmで、ポット苗木の養成に適していた。2年生苗木では20~30cmで、プランターに植栽するには適していた。3年生苗木は断根部からの再生は全く確認されず、根株全体からの発根も無かった。さらに、根株周辺に灰青色の菌糸が繁殖し、秋期にヌメリイグチが発生した。ヌメリイグチの菌糸は、ほ場の土壌からもDNA鑑定によって頻りに検出されていることから、ほ場の土壌に定着したヌメリイグチがアカマツ苗木に感染し、移植によって試験林に持ち込まれたと推測された。

そのため新根の伸長も無く、ヌメリイグチ菌の感染が著しい3年生苗木については、マツタケシロの形成を目的とした本試験に適さないと判断し、以後使用を中止した。1, 2年生苗木であっても既に成長した部分にはこの菌糸が確認できたが、断根処理後、新たに伸長した新根部分にきのこの菌根は確認できなかった(図-5)。

接種した種菌を掘り起こしたところ、種菌全体を細根が密生した状態で囲まれていた(図-5)。この状態は、シロの内部に伸長しているアカマツの細根と同等以上の繁殖状況であり、断根処理によってマツタケシロの形成に十分な細根量が確保できたと判断できた。また、種菌を苗木の細根が貫通している状況も観察できた。



図-5 接種1年後の種菌とアカマツ苗木の伸長状況

一方、掘り起こしたバイオマスプラスチック種菌の外装は作製時に比べ硬化し、表面は亀裂が入った状態で、内部の培養菌糸は既に消滅していた部分が多かった。植栽後、約1ヶ月経過した5月初旬には、種菌内部に青緑色の胞子を形成したカビが繁殖し、マツタケ菌が駆逐されつつあるものと推察された。これらのカビ類は溶菌酵素を産生し、マツタケ菌糸を分解し、吸収しているものと考えられた。マツタケの発生する土壌は、強い乾燥状態が保持されているものの、土壌中に降雨によって運搬されたカビ類の胞子が潜伏していると考えられる。この胞子は降雨中に推定で10kg/ha前後含まれる窒素(牧坂 1961)と、種菌に含まれる栄養成分を吸収して繁殖したと考えられた。さらに11月には、他の糸状菌と考えられる菌糸が繁殖している状況も確認され、バイオマスプラスチックによる種菌の保護は不十分と考えられた。

前述のとおり土壌中に埋設されたマツタケ菌糸は消滅し、その後伸長した新根部には、別の菌根が形成されていた。このカビ類の繁殖は、全国の原木シイタケのほだ木への被害発生時期である5, 6月と一致し、自然界におけるごく一般的な現象と考えられる。カビの繁殖への対策としては、種菌の含水率を20%以下に保持することが有効と思われる。

マツタケの菌根に酷似した一部の菌根については、カ

スタンプライマーを用いた2回のPCR増幅によるDNA判定を行ったが、マツタケ特有のバンドは検出されず、感染は確認できなかった。

ホンシメジについては、ポットの底面に沿って伸長した細根のうち、種菌に接触した部分には、粗く白色の菌糸のコロニーが円形に形成されている状況が確認できた(図-6, 7)。細根全体だけでなく培土表面にも伸長した菌糸は、灰青色のヌメリイグチ菌糸とは異なっていた。ポット底面の細根は、表面を菌糸で覆われた、二又状の菌根を形成した部分も観察できた。寒天培地の種菌は、接種から2か月間程度の期間では、消失することもなく、さらに種菌の消失を招くカビ類の繁殖も確認されなかった。しかし種菌の厚さが薄くなっていったため、ポットに埋設した状態でも乾燥に弱く、長期間の培養には適していないことが考えられた。カビ類は非常に生育条件の適応範囲が広く、あらゆる場所に潜在すると考えられるが、一般に高温多湿条件が維持された状態で発生しやすい。今回の試験では、カビの発生を抑えることができたが、安定的な感染苗木の育成には、常にカビの発生に注意する必要がある。

ホンシメジとヌメリイグチの菌糸成長の比較の結果、供試したホンシメジ3菌株全てがヌメリイグチの菌糸伸長量を上回った(図-8)。ホンシメジの菌糸成長は、全ての菌株で培養を開始してから6日目から伸長量に差が現れ、24日経過した後は、ヌメリイグチが20mm前後の伸長量を示したのに対し、70~80mmと4倍の伸長量を示した。この現象は、人工培地上でホンシメジとヌメリイグチが競合すると、ホンシメジが優位に繁殖することを示した。その後ヌメリイグチの菌糸はホンシメジ菌糸に包囲されて成長を停止した。この現象によって土壌中においても、毎年ほぼ同じ位置に子実体を発生させるヌメリイグチより、数十cm移動するホンシメジの優位性は変わらないことが示された。両者の菌糸伸長量の差を利用すれば、ヌメリイグチが感染している苗木の新根部に、優位的にホンシメジを感染させることができる可能性がある。自然環境下では、アカマツ根系に多様な菌根菌が複合的に感染していることが確認されており(宝月ら 2008)、それぞれの菌根菌が必要とする栄養源の違いや空間的な広がりによって、一定の棲み分けが行われていると考えられ、1本の細根上に複数の菌根菌が感染し、棲息している状態と考えられる。

ポットを利用したホンシメジの簡易な感染苗育成方法は、省力的で、2~3ヶ月程度と短期間に育成可能な方法と考えられるが、現時点では子実体の発生は未確認である。

2~4月における感染苗のポット内の地温変化は、温室内の日射に影響を受け、最低地温が-1℃、最高地温は28℃と変動が大きかった(図-9)。この期間の平均

地温は11.06℃であり、アカマツ幼苗の発根がこの地温で誘導されることが判った。

苗木の形状について、地上部は11.8±2.3cm、根系は17.6±3.9cmであった。

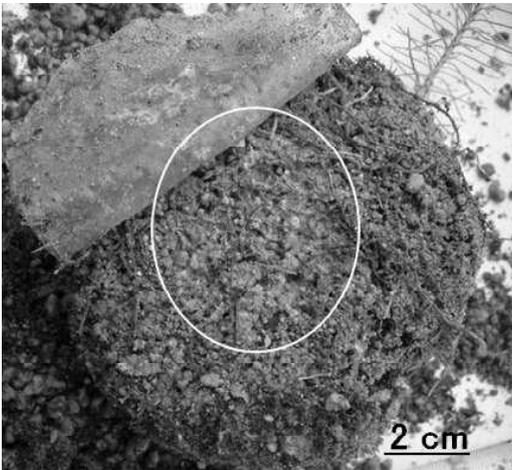


図-6 ホンシメジのアカマツ根系への感染状況

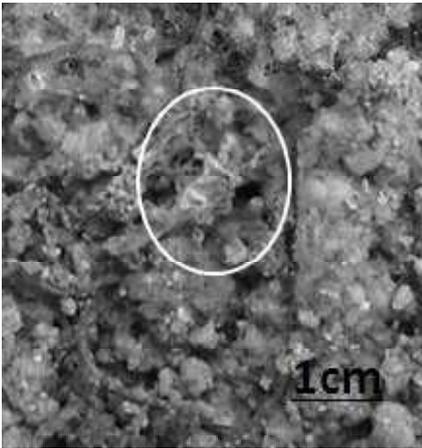


図-7 形成された菌根 (図-6 の拡大)

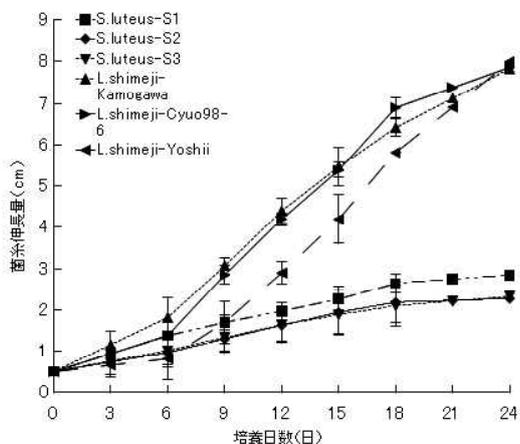


図-8 ホンシメジとヌメリイグチの菌糸伸長量  
注. 平均値と標準偏差を示す

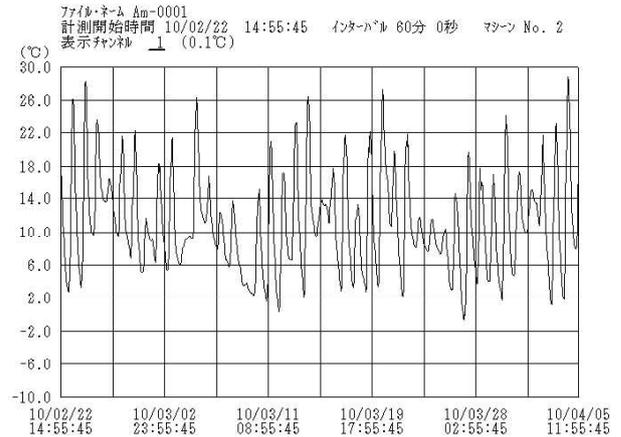


図-9 ポット内の温度変化

アマタケ・ショウロの試験について、感染苗を植栽してから2年間が経過したが、子実体の発生は確認できていない。また植栽後1年後現在で試験地における草本・木本の自然発生は確認されていない。

## 2. 土壌水分量の現況調査

2試験地の土壌含水率は15~20%の階層が30%と最も多く、20%以下の階層は70%を占めた (図-10)。カビ等の菌類の繁殖を抑制するための木材乾燥の平衡含水率が20%以下で、特に15%が基準 (鈴木 1998) であることや、菌床栽培の培地含水率が60%を目安としていることを考慮すると、きのことしては特異的に乾燥した環境で棲息していることが判明した。腐性的な性質を持つ細菌、カビ、腐朽菌等の微生物は、この乾燥した土壌条件によって抑制されていると考えられた。

## 3. 土壌水素イオン濃度の現況調査

マツタケに関する別の土壌調査では、pH5.0~7.0であることが確認されており (吉村 2004)、中性域でも生育可能とされているが、今回の調査では、マツタケ発生地 of 土壌の水素イオン濃度は、pH3.5~4.5の酸性領域が100%を占め、pH5.0を超える土壌は確認できず、さらに酸性の強い土壌であることが判った (図-11)。アンモニア態窒素を硝酸態窒素や亜硝酸態窒素に変換する能力を持つ硝化細菌は中性域で増殖可能であるが、このpH3.5~4.5の酸性領域では増殖できないことから、降雨に含まれる窒素の90%を占めるアンモニア態窒素 (牧坂 1961) は植物が利用する硝酸態窒素に変換されず、ほぼそのまま土壌に浸透してマツタケ等菌根菌に利用されると考えられる。マツタケ発生地では酸性を好むアカマツのほか、ツツジ属の樹木が定着し、独特の植生を構成する (小川 1978) ことが知られ、酸性土壌の適応能力が影響すると考えられた。

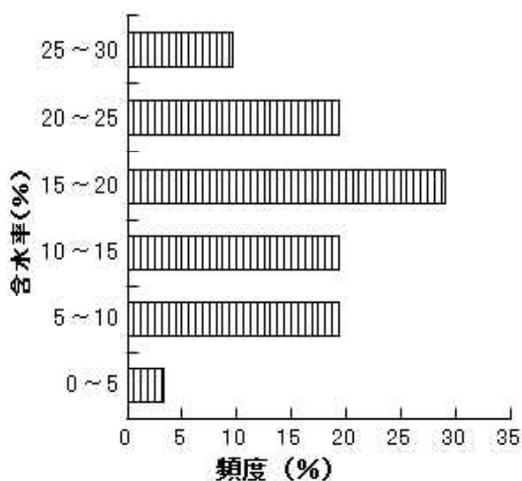


図-10 土壌含水率

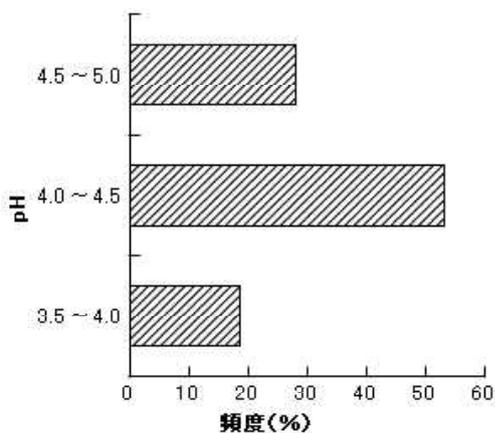


図-11 土壌の水素イオン濃度

#### 4. マツタケシロの庇陰試験

庇陰したシロの最高地温は、常にcontrolより1℃下回り(図-12)、標準偏差でも差を認めたものの、機器の誤差範囲が1℃と同程度であるため、効果を明確に検証することはできなかった。

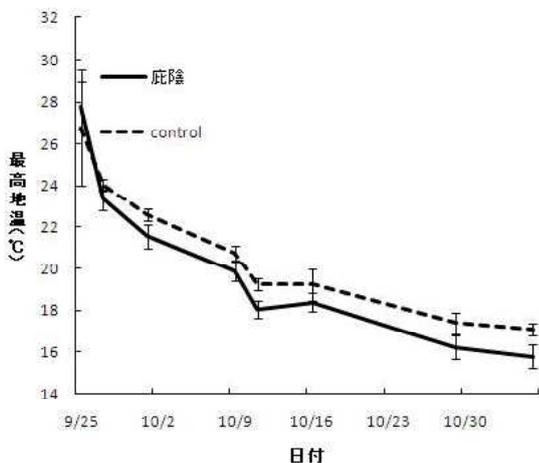


図-12 最高地温の変化(2008年)  
注. 平均値と標準偏差を示す

2008年9月25日~10月20日の期間、土壌深別の地温は図-13のとおりで、さらに降雨時の詳細な地温変化は図-14のとおりである。10mm/時間を超える降雨は6回で、最初に15℃以下まで急速に低下した後に上昇に転じたものの降雨の都度下降したため、3℃以上の地温上昇が抑制され、14~17℃で安定した。この計測データから、子実体の発生刺激は最初の地温低下で誘導されたと考えられ、地温19℃以下で発生刺激を受けるとする従来の定説を大きく下回った。子実体の収穫は、9月21日の最初の降雨から15日後であり、発生は約10日後から始まったと推測された。この後10月末までに4回、合計5回で、928gの子実体が発生した。降雨による温度変化の幅は土壌深によって差があり、9月26日の例では、降雨は0時から6時まで18mm/日(岡山地方気象台 津山地域)続き、降雨が始まって一時的に地温が上昇した後に、約10時間後から地温が低下し始め、さらに30時間経過後に、最も地表に近い地下5cmでは最大で4℃下がり(-0.13℃/時間)、地下10cmでは3℃(-0.10℃/時間)、地下15cmでは2℃(-0.07℃/時間)低下し(図-14)、土壌が深くなるに連れて温度変化が小さくなった。

通常マツタケの菌根は地表10cm付近に多く、地温は土壌が深くなるに連れて低下する。そのため、地温測定 of 土壌深については、シロの菌糸が多く存在している地下10cmを標準としている。今回の結果から、シロの土壌そのものが断熱効果を持ち、土壌が深くなる程気温の変動が小さく、地表に近いほど気温の影響を受けやすいことが判った。そのため、子実体の増産技術の一つとして従来から行われているシロへの客土処理は、細根量を増加させる効果のほか、地温の変動を抑制する効果もあると考えられた。

2008年と2009年の地温変化は、9月下旬から10月初旬に掛けての動向が大きく異なり、9月下旬に10mm/時間以上のまとまった降雨のあった2008年と、降雨の無かった2009年では、その後の地温の下降時期に大きな影響を及ぼしており(図-15)、その結果2008年のマツタケ発生量は33本、928g、2009年は7本、360gと発生量にも違いが見られた。10月初旬以降の地温変化は大きな差が無かった。10月までの降雨による土壌含水率と地温の変化は、マツタケ子実体の重量、発生回数を左右すると思われる、美咲町試験地における土壌のかん水適期は、この9月下旬から10月上旬の20日間程度であることが明らかになった。

平均地温と平均気温の比較では、地温の変動は気温より幅が小さいものの、気温の変動より12時間程度遅れる程度であり(図-16)、気温の変動と連動している。マツタケの菌糸層は地表近くにあるため、気温変化についても地温と同様にマツタケの発生時期を予測する指標と

見なすことができると考えられた。

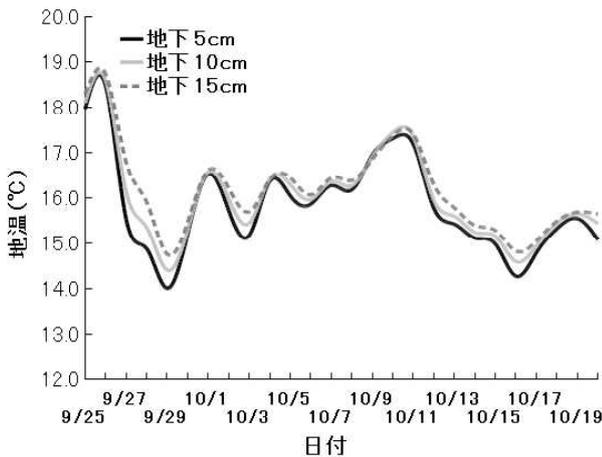


図-13 土壌深別の平均地温の変化 (2008年)

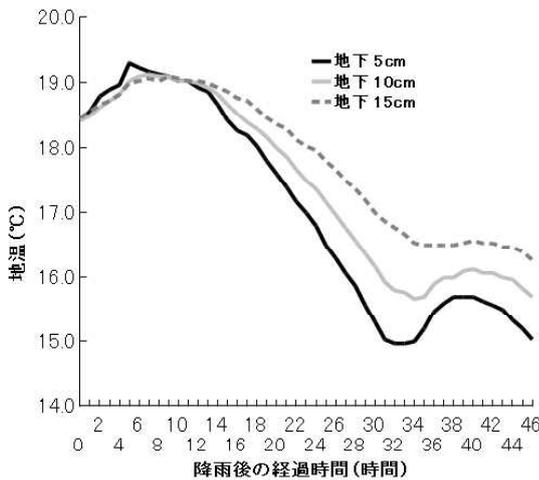


図-14 降雨後の土壌深別の平均地温  
(2008年9月26日0:00からの変化)

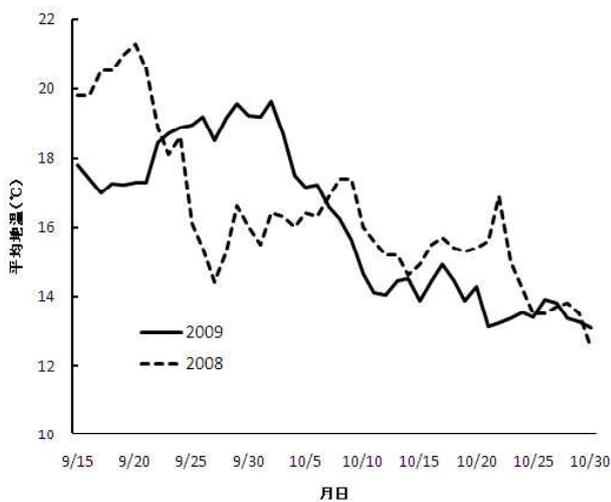


図-15 2008年と2009年の平均地温の変化

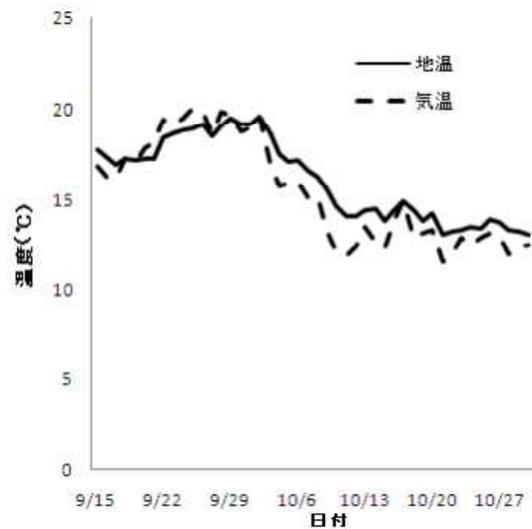


図-16 地下10cmの平均地温と平均気温の比較

### 5. マツタケシロの土壌かん水試験

植木鉢内の水は、鉢の壁面全体から滲み出て周辺土壌に吸収された。その影響範囲は、放射方向に30cmであり、最大800ml/日のかん水能力が認められ、5l容量の植木鉢で1週間以上かん水が可能であった。植木鉢を埋設する時に土壌の緊密な土壌構造が壊れ、焼成された多孔質素材を持つ植木鉢の壁面と底面から水が周辺土壌へ浸透することによって、緩慢なかん水が可能であることが判った。シロへのかん水は、9月中旬頃から10月上旬の4週間であったが、この間、5l/週の給水が必要であると仮定すると、植木鉢に連続的に給水するには20l必要なので、植木鉢1個につき、蛇口の開口度を調整した20l容量の携行缶を1缶設置すれば十分に条件を満たすと考えられた。実用的に実施するには植木鉢の開放部からの蒸発や、雨水の滞水を防ぎ、適期にかん水をコントロールするため、蓋を設置することを検討する必要がある。なお、かん水が終了した植木鉢は、藻類の繁茂等による目詰まりを防ぐため、一旦除去する必要があった。また、土壌が粘土質の場合には、植木鉢を設置するために掘った孔に湛水することも可能であった。

### 6. マツタケシロの土壌改良用竹炭の保水試験

粒度別保水性を図-17に示す。保水性は粒度が大きい8mm超過と4mmの時に28.4~37.7%と低く、逆に2mmの時に88.8%、1mmでは225.7%と最高値を示し、1mm未満では182.5%と下降した。最も粒度が大きい場合には、竹炭間の空隙が大きく、水道水が速やかに流下したため、保水性は低下し、粒度が小さい場合には、空隙が埋まることで目詰まりを起し流下が滞ったと考えられた。これらの結果から、最も保水性の高い粒度を1mmの竹炭と判定した。また、竹炭の粒径ごとの保水性が明らかになり、今後の目安とすることができた。粒度2mm以下の竹炭を土壌に添加した場合の保水

性を、図-18に示す。前述の試験により、1 mm竹炭には高い保水能力が認められ、森林土壌に添加した試験においても高い保水性を保持し、40%添加した場合には123.6%と最大に達した。粒度1 mm未満、2 mmの竹炭を土壌に添加した場合の保水性は、いずれも1 mm竹炭を下回り、2 mm以下の竹炭については、添加率と保水性が明らかになった。一般の菌床栽培では、標準的な培地含水率を60%前後としている（渡辺 2000）。マツタケ菌も同程度の含水率に適應すると仮定すると、図-18から1 mm竹炭は、森林土壌に対して約15% (W/W) 添加が適量と考えられた。

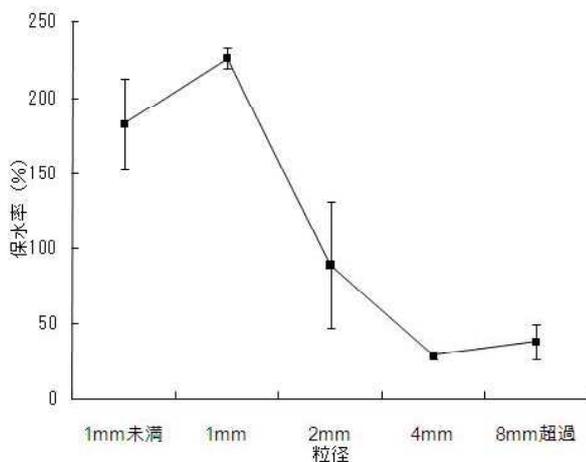


図-17 竹炭の粒径別保水性  
注. 平均値と標準偏差を示す

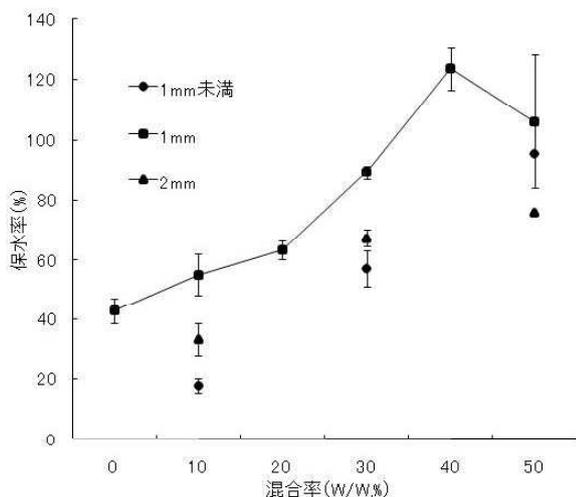


図-18 竹炭と土壌を添加した場合の粒径別保水性  
注. 平均値と標準偏差を示す

1 mm竹炭15%と森林土壌の添加物を5日間野外に放置したときの保水性は26.5%と対照区の3倍以上の保水性があった（表-6）。また15日経過後も保水効果が持続

することが判明し、乾燥によるマツタケの発生不良を改善する効果が期待できた。竹炭の表面には、超微細孔が多数存在しており（内村 2005）、吸着性や調湿性を持つことが知られている。保水性の向上は、この超微細孔に水分が保持されることが原因であると考えられた。さらに、地表からの蒸発を抑制するためにシートで被覆すると、対照区の2倍程度の保水性を有した。この結果、マツタケ子実体の発生に必要な土壌水分量を確保するなどの応用方法が考えられた。

表-6 竹炭添加土壌の保水性

土 壤	含水率 (%)		
	5日後		15日後
	被覆有	被覆無	被覆無
1 mm竹炭添加	42.0	26.5	17.0
森林土壌 (control)	20.0	7.5	3.7

1 mm竹炭を水道水により洗浄したときのpHの変化を図-19に示す。当初、pH9.5とアルカリ性を示し、1回洗浄後pH 8.0と弱いアルカリ性に下降し、2、3回洗浄後にはそのまま安定し、きのこ菌糸の生育に影響するアルカリ性は若干緩和された。

水道水で1回洗浄した1 mm竹炭を森林土壌に添加した場合のpHを図-20に示す。竹炭を添加しない森林土壌はpH5.1を示し、竹炭の添加率増加に伴い、pHは微増した。また50%添加区でもpH5.5程度に収まり、マツタケに悪影響を与える可能性は小さいと考えられた。

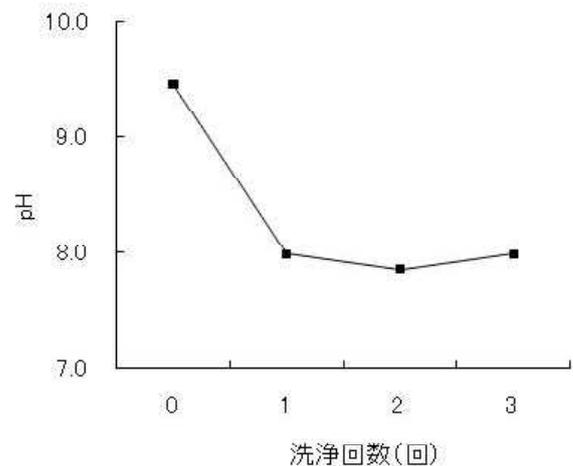


図-19 洗浄による竹炭のpHの変化

1 mm竹炭の影響調査について、1 mm竹炭をPDA培地に添加した時のpHの変化を図-21に示す。PDA培地はpH5.6であるが、1 mm竹炭の添加量の増加に関わらず、pH7.0~7.5で安定した。前述の土壌に1 mm竹

炭を添加した試験では、pHは5.5前後の弱酸性で安定し、50%添加までは数値が上昇しなかったことに加え、1 mm竹炭をPDA培地に添加した試験でも極端なpHの上昇は起こらなかった。PDA培地に限りpHが上昇した理由として、竹炭の超微細孔内に抗菌性を持つギ酸やフェノール等(内村 2005)が洗浄後も固着して残存していると考えられ、培地滅菌時の煮沸によってこれらの抗菌物質が溶出してpHに影響を与えた可能性が疑われた。

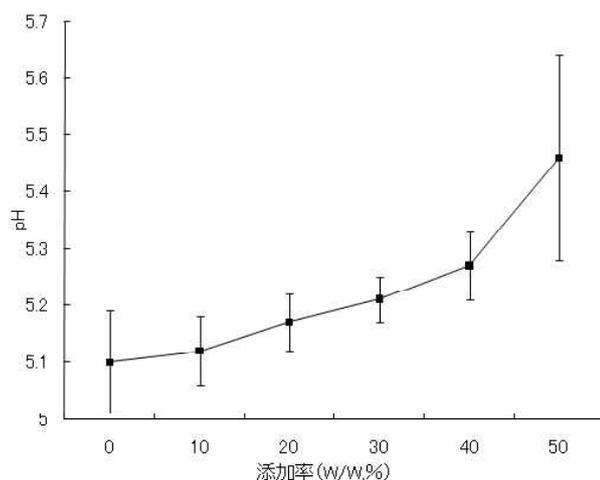


図-20 竹炭を添加した森林土壌のpH  
注. 平均値および標準偏差を示す

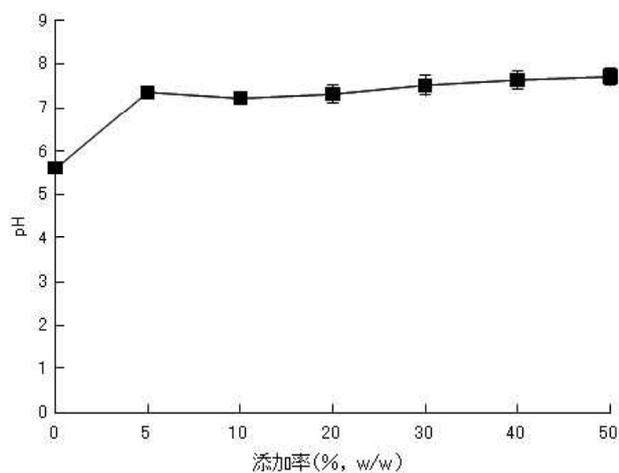


図-21 1 mm竹炭をPDA培地へ添加した場合のpHの変化  
注. 平均値および標準偏差を示す

竹炭を森林土壌に添加した場合、pHがアルカリ性に变化したことや、図-22に示されたように、いずれのきのこ菌糸でも、1 mm竹炭添加による菌糸伸長量の減少傾向が見られることから、竹炭を土壌と異なるPDA培地等へ添加する場合は、培地重量の5%程度の添加率が

望ましいと考えられた。マツタケの発生する土壌の水素イオン濃度が全てpH5.0以下であったことや、浜田寒天培地を使った伊藤(1992)のホンシメジ菌糸成長比較試験では、培地容積に対して、5~10g/l(容積比0.5~1.0%)の広葉樹粉炭の添加は、対照区に対し成長量の増加を示し、30~100g/l(容積比3~10%)の添加では阻害傾向を示すことが報告されている。竹炭のPDA培地の添加でも同じ阻害傾向を示したことから、炭に含まれる残存物質が阻害的に作用したと考えられた。これらの結果から、竹炭を土壌へ施用する場合には、十分な洗浄を前処理として実施する必要があると考えられた。

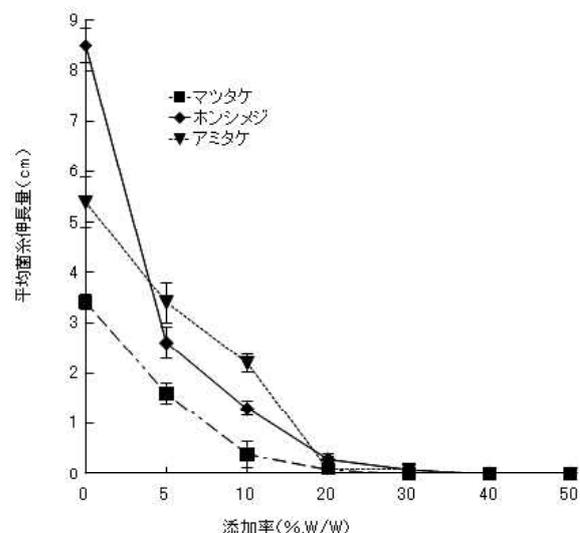


図-22 1 mm竹炭を添加したPDA寒天培地上の菌糸伸長  
注. 平均値および標準偏差を示す

### 7. RAPDによる系統判別方法

マツタケ10菌株のRAPD-DGGEによる系統判別方法の結果について、プライマー(Ls-1)を使用したときのRAPD-DGGEでは、使用した10菌株についてそれぞれ異なる多型の泳動パターンが得られ(図-23)、本手法による系統判別の可能性が示された。他のプライマーでは、明確なバンドパターンの差は見られなかった。寒天ゲルに比較し、アクリルアミドゲルを用いるDGGEはバンドの分離能が非常に高く、理論上、1塩基の差も判別できる。これまで寒天ゲルで分離できなかったバンドも分離されるために、遺伝子変異の検出に用いられる電気泳動法である。RAPDによるPCR増幅手法と組み合わせた本試験では、予備試験のデータが得られた段階に過ぎないが、さらに細かな条件を検証し、タイピングの手法を加えることで、様々なきのこ系統判別にも応用可能と考えられる。特に、最も下流に泳動されるバンドについて、2~3本のバンドが確認でき、これらを分離

する最適なゲル濃度勾配が明らかになれば、さらに明快な系統判別が可能になると考えられた。

ホンシメジ10菌株の判別結果について、プライマー毎の寒天ゲル電気泳動結果は図-24, 25, 26, 27のとおりである。

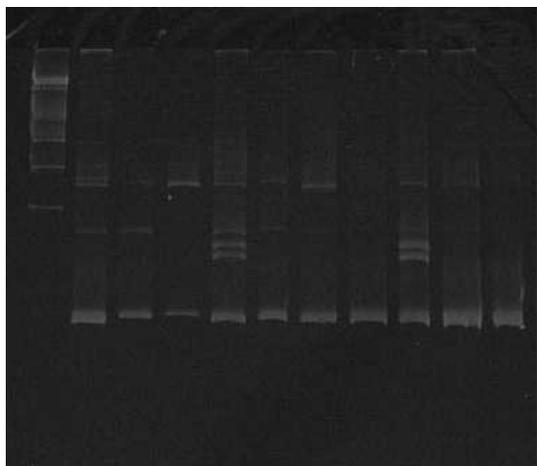


図-23 RAPD-DGGEの電気泳動写真

{左のレーン1は、マーカー ( $\lambda$ -Hind III digest) , レーン2~11は、それぞれマツタケ10菌株を電気泳動}

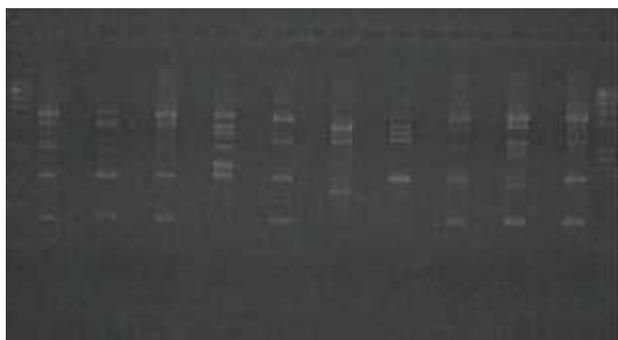


図-24 プライマー Ls-1

{両端のレーンは、マーカー ( $\lambda$ -Hind III digest) , その間の1列おきの各レーンはそれぞれホンシメジ10菌株の名称で、以下図-25, 26, 27まで同じ}



図-25 プライマー Ls-2



図-26 プライマー Ls-3



図-27 プライマー Ls-4

これらのバンドパターンは、プライマーのLs-2 (図-25) , Ls-4 (図-27) を使用したときに差が認められるものの、DGGE法による電気泳動に比較するとバンドの映像が不明瞭であり、今回のデータのみによって系統判別の可否について、明確な判断を下すことはできなかった。マツタケと同様に、DGGE法による電気泳動やタイピングの手法により、明確なバンドパターンが得られるよう再検討する必要がある。

#### 8. マツタケ発生量に影響を与える因子の推定

因子分析では、固有値が1を超える第3因子までが得られ、特に林齢ごとのマツ林面積と子実体発生量を比較した場合に、第1因子として人工林、天然林ともに30年生前後のマツ林面積の増減に正の相関が現れ、40~50年生のマツ林面積に負の相関が現れた(図-28, 表-7, 表-8)。経験的に、シロは20~25年生頃に形成されていると考えられ、マツタケの発生は30年生頃からのアカマツ林で始まり、最盛期である30~40年を過ぎてマツの密度が低下してくる高齢林では発生量が減少すると述べる説(伊藤・岩瀬 1997)がある。その背景にはマツタケの栄養源となる細根量との関連が推測されており、本分析はそれらの意見を支持する結果となった。今回の因子分析では、それ以外にも第2, 第3の因子までが示されているが、因子負荷量の変化が小さいため、その背景である直接的な因子は推測できなかった。

別の重回帰分析では(図-29, 表-9, 10, 11) , 予

測値と観測値が高い相関を示して正の相関を示しており ( $R^2=0.7451, R=0.863$ )、発生量を左右する主な要因が、マツ林面積であることが示唆されたことから、県特産物としてマツタケの増産を図るには、マツ林面積を増加させる必然性があることを端的に示した。しかし26個の発生量データのうち、大量発生を示す近似曲線より上側の外れ値2個と、予測より不作となった下側の4個の外れ値が残ったため、表-9の決定係数0.745と、自由度調整済み決定係数-0.274がかけ離れ、標準誤差についても62.203と大きな値を示した。さらに分散分析では、有意な確率は0.722となり、有意水準0.05を上回った。成書の解説(石村 1995)では、この数値は有意水準を下回る必要があるため、算出された重回帰式そのものには信頼性が得られないと判断した。

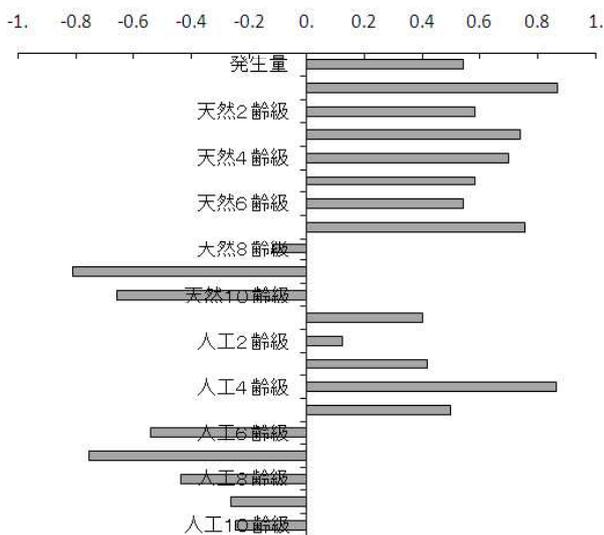


図-28 子実体発生量とマツ林面積の因子分析 (第1因子, 1980~2007)

前述の外れ値は、一連の分析結果に大きな影響を与えたと考えられたため、これらの数値を除外した条件で、天然林と人工林を分けた重回帰分析を行った結果では、天然林についてはそれぞれの値がよく当てはまった結果となり(図-30, 表-12, 表-13, 表-14)、分散分析においても有意水準0.05を下回り、予測式の信頼性が得られた。同時に、今回の分析における外れ値の影響の程度も示された。人工林については、標準誤差も大きく信頼性が得られなかった。その原因として、人工林面積が天然林面積に比較して少なく、分析の対象とした期間における数値の変化が顕著に得られていない可能性が考えられ、十分な信頼性を持つ分析結果を得るためには、さらにデータの蓄積を待つこととした。

また外れ値は、マツ林資源量に関与しない別の要因と考えられ、今回の統計手法による予測を超えたマツタケの発生を左右する別の重要な因子があることが推測でき

た。この外れ値に関しては、当該年度の気象条件についてその特徴を明らかにするため、今後の研究でさらに詳細な検証を加えることとしたい。子実体の発生要因については、主に地温と降水量の要因に着目して経験的に発生時期を予測するが、今回用いた月単位のデータでは信頼性のある相関を得ることができなかったため、別の因子を検討する必要がある。

表-7 各因子の主因子解

変数名	第1因子	第2因子	第3因子	第4因子	第5因子
発生量	0.673	-0.115	-0.18	-0.064	0.434
天然1 齢級	0.808	-0.078	-0.386	-0.314	0.074
天然2 齢級	0.935	0.283	0.096	-0.021	0.127
天然3 齢級	0.967	0.186	-0.053	-0.126	-0.022
天然4 齢級	0.988	0.054	-0.038	0.057	-0.037
天然5 齢級	0.986	-0.028	0.106	0.097	-0.041
天然6 齢級	0.976	-0.014	0.184	0.002	-0.03
天然7 齢級	0.857	-0.275	-0.232	-0.118	-0.076
天然8 齢級	-0.236	-0.879	-0.225	0.164	0.15
天然9 齢級	-0.843	-0.426	0.304	-0.057	0.039
天然10 齢級	-0.956	0.228	0.046	-0.068	0.048
人工1 齢級	0.856	0.087	0.151	0.398	0.072
人工2 齢級	0.714	0.428	0.511	0.164	0.087
人工3 齢級	0.821	0.467	0.281	-0.084	0.002
人工4 齢級	0.943	0.08	-0.256	-0.142	-0.083
人工5 齢級	0.547	-0.714	-0.314	0.255	-0.1
人工6 齢級	-0.339	-0.857	0.344	0.032	0.029
人工7 齢級	-0.918	-0.048	0.243	-0.251	0.064
人工8 齢級	-0.856	0.472	-0.172	0.005	0.046
人工9 齢級	-0.721	0.568	-0.33	0.191	0.035
人工10 齢級	-0.694	0.573	-0.34	0.233	0.033
固有値	14.026	3.753	1.397	0.613	0.286
寄与率	66.789	17.871	6.653	2.918	1.360
累積寄与率	66.789	84.660	91.313	94.231	95.591

表-8 各因子の因子負荷量(バリマックス回転後)

変数名	第1因子	第2因子	第3因子	第4因子	第5因子
発生量	0.542	0.258	0.264	-0.041	0.51
天然1 齢級	0.868	0.328	0.048	0.057	0.214
天然2 齢級	0.584	0.322	0.528	0.453	0.228
天然3 齢級	0.738	0.371	0.394	0.373	0.105
天然4 齢級	0.698	0.402	0.538	0.209	0.061
天然5 齢級	0.583	0.511	0.596	0.187	0.052
天然6 齢級	0.541	0.574	0.538	0.264	0.079
天然7 齢級	0.757	0.496	0.233	-0.09	0.042
天然8 齢級	-0.12	0.2	-0.147	-0.918	0.1
天然9 齢級	-0.81	0.025	-0.442	-0.369	-0.037
天然10 齢級	-0.659	-0.544	-0.491	0.029	-0.048
人工1 齢級	0.4	0.282	0.81	0.147	0.094
人工2 齢級	0.124	0.293	0.691	0.626	0.134
人工3 齢級	0.418	0.298	0.481	0.687	0.104
人工4 齢級	0.864	0.327	0.296	0.212	0.044
人工5 齢級	0.497	0.428	0.297	-0.676	-0.077
人工6 齢級	-0.542	0.506	-0.162	-0.627	-0.002
人工7 齢級	-0.755	-0.196	-0.602	-0.035	0.008
人工8 齢級	-0.437	-0.781	-0.407	0.127	-0.056
人工9 齢級	-0.265	-0.923	-0.221	0.097	-0.087
人工10 齢級	-0.248	-0.934	-0.175	0.086	-0.093
説明力	7.259	4.923	4.128	3.301	0.462

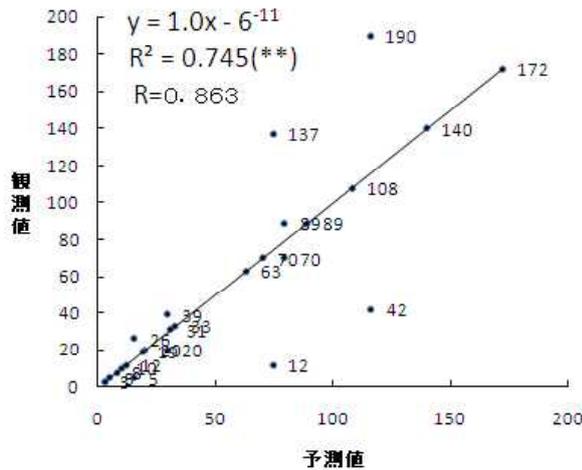


図-29 マツ資源量とマツタケ発生量の予測値と観測値

\*\* : 重相関係数

表-9 重回帰分析の各値

重相関係数	0.863
決定係数	0.745
自由度調整済み決定係数	-0.274
標準誤差	62.203
データ数	26

表-10 分散分析表

要因	自由度	変動	分散	観測された分散比	確率
回帰	20	56556.462	2827.823	0.731	0.722
誤差	5	19346.000	3869.200		
全体	25	75902.462			

表-11 回帰係数

変数名	回帰係数	標準誤差	t値	確率
天然1齢級	-1.311	2.700	-0.486	0.648
天然2齢級	0.539	0.790	0.683	0.525
天然3齢級	0.380	0.874	0.435	0.682
天然4齢級	0.045	0.342	0.130	0.901
天然5齢級	-0.003	0.229	-0.014	0.990
天然6齢級	0.030	0.130	0.231	0.826
天然7齢級	0.000	0.051	-0.008	0.994
天然8齢級	-0.021	0.049	-0.425	0.689
天然9齢級	-0.026	0.169	-0.154	0.884
天然10齢級	-0.002	0.189	-0.011	0.992
人工1齢級	-2.373	8.653	-0.274	0.795
人工2齢級	-0.606	1.086	-0.558	0.601
人工3齢級	-0.355	1.143	-0.310	0.769
人工4齢級	-0.538	1.353	-0.397	0.707
人工5齢級	-0.155	0.678	-0.228	0.828
人工6齢級	-0.217	1.276	-0.170	0.872
人工7齢級	-0.204	0.627	-0.326	0.758
人工8齢級	-0.276	1.837	-0.150	0.887
人工9齢級	-0.088	0.926	-0.095	0.928
人工10齢級	-0.579	1.489	-0.389	0.713
定数項	4054.984	15454.874	0.262	0.803

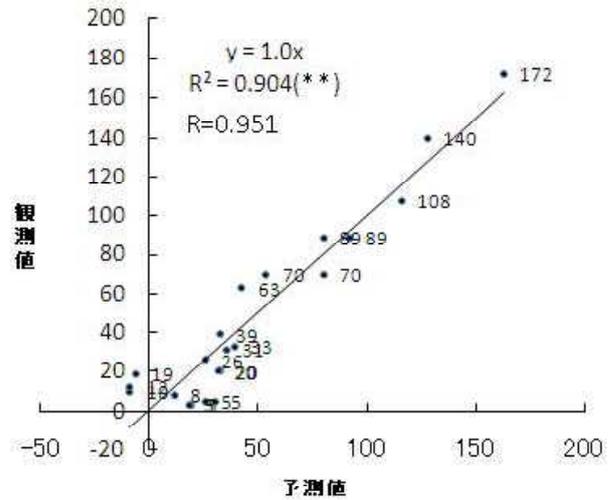


図-30 マツ天然林資源量とマツタケ発生量の予測値と観測値 (外れ値を除外した場合)

\*\* : 重相関係数

表-12 外れ値を除外した時の分散分析表 (天然林)

重相関係数	0.951
決定係数	0.904
自由度調整済み決定係数	0.816
標準誤差	20.415
データ数	22

表-13 外れ値を除外したときの分散分析表 (天然林)

要因	自由度	変動	分散	観測された分散比	確率
回帰	10	42966.603	4296.660	10.310	0.000
誤差	11	4584.351	416.759		
全体	21	47550.955			

表-14 外れ値を除外したときの回帰係数 (天然林)

変数名	回帰係数	標準誤差	t値	確率
天然1齢級	0.224	0.137	1.635	0.130
天然2齢級	0.239	0.049	4.866	0.000
天然3齢級	-0.046	0.019	-2.463	0.032
天然4齢級	-0.028	0.013	-2.107	0.059
天然5齢級	-0.052	0.012	-4.210	0.001
天然6齢級	0.004	0.012	0.373	0.716
天然7齢級	0.018	0.006	3.041	0.011
天然8齢級	0.015	0.005	2.842	0.016
天然9齢級	-0.012	0.005	-2.476	0.031
天然10齢級	-0.023	0.007	-3.375	0.006
定数項	312.713	158.856	1.969	0.075

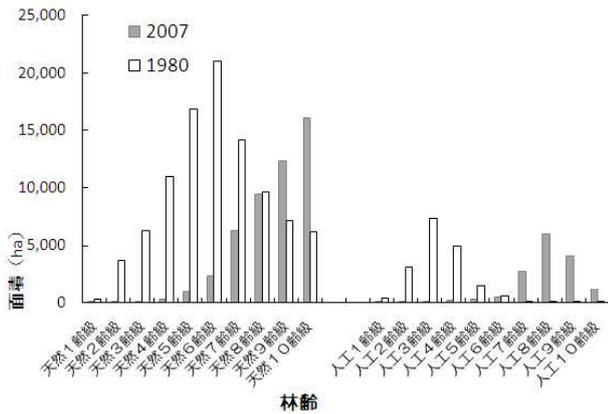


図-31 マツ林資源量の変化

1980年から27年経過した2007年のマツ資源量を年齢階層別に比較すると（図-31），人工林，天然林ともに，30年生前後の面積が大幅に減少し，現在では中心的な資源量が50年生に推移し，高齢林化が進行していることが明らかであった。マツタケは，環境改善以外のほぼ全ての生活環をマツ林資源に依存する生産物であることから，その増産には高齢林化したマツ林を木材の活用によって更新するなど，30年生前後の資源量を確保することが最も必要であると考えられた。

#### IV おわりに

今回実施した菌根性きのこの感染試験の結果，バイオマスプラスチックを用いたマツタケの種菌は，その分解過程で割れが発生し，アカマツの細根に感染するまでの耐久性に短所があり，改良を必要とした。しかし，断根処理を行った1，2年生アカマツ苗木の発根状態と，種菌との接触状況は最良であり，人工感染に適した方法と考えられた。ホンシメジ，アマタケ，ショウロの人工感染方法については，小型のポット苗木をさらに大型のポットに移植して短期間に感染を誘導する「二段ポット苗木法（仮称）」を新規に考案し，普及組織，林研グループ等と現地試験を行う段階まで実用化した。今後の観察で子実体の発生が確認できれば，県内の関連機関と連携し，直ちに実用化する方針である。

次に，マツタケ発生地の土壌環境を調査し，土壌含水率が20%以下の乾燥状態に保たれていることや，土壌の水素イオン濃度がpH3.5～4.5の酸性であることが確認され，適地判定の指標することができた。

マツタケ子実体の発生には十分な水分の確保が重要であるが，発生期の降雨は気象の変動に大きく左右される。特に発生時期に高温乾燥傾向が長引くと，マツタケに限らず自然発生するきのこ類は大きなダメージを受けやすい。そのため，今回庇陰，かん水，客土の3種類の対策方法について効果を検証した。

地温上昇の一因とも考えられる日光について，シロの庇陰試験を行ったところ，最高地温を1℃程度抑制する効果があると考えられ，実際の現地で環境整備の一つとして実施されている周辺樹木の除間伐や，寒冷紗等園芸資材の敷設作業に関する庇陰効果の裏付けとなった。

かん水方法について，撥水性を持つ土壌に素焼きの植木鉢を埋設し，強制的に土壌中にかん水する方法によって，マツタケ発生期の水分不足に対して人工的な水分供給が可能になった。

さらに，マツタケの増産のために，竹炭の保水剤としての可能性を探るために，保水性を調査したところ，粒度によって保水性が大きく異なり，特に粒度1mmの竹炭は保水性が高いことが明らかになった。そして竹炭をマツタケの森林土壌へ添加した時の保水性を調査し，竹炭の効果的な添加率を示した。地球温暖化が叫ばれる中，今後も過乾燥によるマツタケの発生不良は予測される場所であるが，これらの対処法を活用することでマツタケ生産を維持，継続したい。

次に菌根性きのこの系統判別を目的としたDNA判定方法を試した。マツタケについてはRAPD-DGGE法，ホンシメジは既に関係されているRAPD法のPCR増幅条件を改変した方法を試した。その結果，いずれの方法でも多型が得られ，種判別の可能性があったものの，不明瞭なバンドも多く現れ，客観性のある判定結果を得るためには，諸条件の最適化やタイピングの導入など，さらなる改良が必要と考えられた。改良の方向性としては，今回のRAPD法を基本技術として，分析の客観性とコストに優れ，スギの系統判別等林木育種分野で実績を持つSCAR (Sequence Characterized Amplified Region) マーカー（渡邊・西山 2007）を開発する基本技術となり得るため，その可能性を探ることにした。この開発には，さらに時間と経費を必要とすることから，当面の系統判別は主に，発生した子実体から菌糸を分離した後，保存中の源種菌と対峙培養した時に，拮抗線の有無によって判断を下す方法を採用せざるを得ない。

マツタケ子実体の発生量を左右する主要因を，多変量解析で推定した。因子分析では，人工林，天然林ともに30年生前後のマツ林の資源量に正の相関があり，高齢林化に連れて負の相関が認められ，マツ林の資源量と林齢に関連性があることが示された。重回帰分析では，外れ値を除外した条件で非常に高い相関を得られ，マツタケ子実体の発生量がマツ林資源量に対応していることが明示できた。これらの分析から，マツタケの自然発生を誘導するには，マツ林の再生と資源量の確保が不可欠である結論に至った。現段階で，試験管内での人工栽培は成功例が無く，施設栽培の兆しは見られない。県内の特産品として少なくとも1年間に数トン以上の生産量を確保するには，自然発生に依存せざるを得ない。このた

め、効率的にマツタケを増産するためには、30年生前後のマツ林を対象に、優先的に環境整備を継続することが、最も現実的な生産方法と考えられた。

今後の研究の方向性として、マツタケがマツの根系に依存している理由を明らかにするため、マツタケが利用している細根の成分を分析し、どのようなメカニズムで栄養源を得ているのかという疑問を明らかにすることで、マツ林の有効的な利用を推進していきたい。

## 引用文献

- 藤原直哉 (2007) 菌根性きのこのシロ形成技術の開発。岡山県林業試験場研究報告23 : 3.
- 宝月岱造・練春蘭・成松真樹・奈良一秀 (2008) 地面の下のマツタケ生態学。森林科学53 : 33-34.
- 伊藤武・藤田博美 (1992) ホンシメジ。きのこの増殖と育種 : pp. 304-306. 農業図書, 東京.
- 伊藤武・岩瀬剛二 (1997) 生態を知り, 適地を選ぶ。マツタケ : pp. 87-89. 農文協, 東京.
- 井上祐一 (2005) 菌根性きのこの安定生産技術の開発。山口県林業指導センター試験報告22 : 20-22.
- 石村貞夫 (1995) 重回帰分析。SPSSによる統計処理の手順。156-158. 東京図書, 東京.
- 紙谷元一・竹内徹・楠目俊三 (2004) DNA多型による白インゲンマメ品種「雪手亡」の識別。育種学研究6 : 29-32.
- 河田弘・小島俊郎 (1979) pH (H<sup>2</sup>O) の測定。環境測定法IV : pp. 138-139. 共立出版, 東京.
- 衣川堅二郎・小川真 (2000) ショウロ。きのこハンドブック : pp.173. 朝倉書店, 東京.
- 牧坂三郎 (1961) 森林に降下する雨水中の窒素量について。高知大学学術研究報告10 (II-4) : 23-24.
- 永田浩 (1969) 林木の芽の休眠。植物の化学調節4 (1), pp. 33-39.
- 小川真 (1978) アカマツ林とそのなりたち。マツタケの生物学:pp. 96-98. 築地書館, 東京.
- 小川真 (2007) ショウロ栽培のコツ。炭と菌根でよみがえる松 : pp. 7-12. 築地書館, 東京.
- 岡山県 (2007) 岡山県の森林資源。22pp, 林政課。SAC工法サンドクッション保水性試験 [http://www.artrock-co.com/ar\\_test/hosui.htm](http://www.artrock-co.com/ar_test/hosui.htm)
- 菅原聰 (2000) 環境にやさしい資材として拡大する木炭需要。炭を使う知恵:pp26. 川辺書林, 長野.
- 鈴木憲太郎 (1998) 防腐・防虫。林業技術ハンドブック : pp1519. 全国林業改良普及協会, 東京.
- 竹内嘉江 (1998) アミタケの人工的菌根形成試験について。中部森林研究46 : 57.
- 内村悦三 (2005) 環境保全とタケ。タケと竹を活かす : pp. 158-161. 全国林業改良普及協会, 東京.
- 渡邊敦史・西山和美 (2007) スギ精英樹クローン識別のためのSCARマーカーの開発。林木育種センター研究報告No.23 : 54.
- 渡辺和夫 (2000) 菌床栽培 I。きのこハンドブック : pp. 46. 朝倉書店, 東京.
- 山田文康 (2005) 社会調査データ解析システムSSDAS。 <http://www.ia.inf.shizuoka.ac.jp/~fyamada/software.htm>
- 吉村文彦 (2004) マツタケ山のつくり方。ここまで来た! まつたけ栽培 : pp. 57-60. トロント, 東京.
- 吉村文彦 (2010) 里山とマツタケを復活させるのは自然で豊かな発想。まつたけ山“復活させ隊”の仲間たち : pp. 80-85. 高文研, 東京.