

# マツタケの養分獲得に関する生物間相互作用の解明

—マツタケのシロ形成における窒素固定機能の評価—

竹内嘉江・増野和彦

マツタケのシロの生態と窒素循環に関して調査した。シロ付近土壌の窒素固定活性が、20℃、24時間のアセチレン還元法で測定可能であることが分かった。マツタケのシロ付近土壌の窒素固定活性は、季節変動が大きかった。土壌pHは年間の変化が少なく、全窒素量はシロ部で多い傾向がみられた。シロ付近に生息する細菌数はシロ部で少なく、シロの内外で多くなる傾向がみられた。マツタケ子実体発生数の多いシロ部では、他の外生菌根菌の生息密度が低く、アカマツの細根密度が高く、含水率が低かった。広葉樹立木密度の低い場所では、マツタケ菌と競合する無孢子不完全菌目・セノコッカム属等の外生菌根菌の生息密度が低かった。

**キーワード：外生菌根菌，アカマツ細根，菌根チップ数，窒素固定活性，土壌 pH**

## 1 はじめに

マツタケを人工的に発生させるためにはマツタケ菌を感染させたアカマツ苗木を林地へ植栽しシロを発達させることが一つの方法と考えられているが、これまで人工的にシロの維持発達に成功した例はない。その原因として、導入したマツタケ菌が既存の微生物群集と競合し消滅すると考えられており、マツタケ菌の感染からシロの発達、子実体形成に至るメカニズム等の解明が必要である。

シロ成長に必要な窒素は、土壌中有機物とシロ付近の窒素固定細菌を含む微生物群集から得ていると考えられるため、ここではシロの生態と窒素循環に関わる微生物の働き等を調査し、シロ成長メカニズムの解明、子実体形成促進技術開発を進めるものである。

なお本試験は、平成 20～22 年に(独)森林総合研究所交付金プロジェクトの委託研究として森林微生物研究領域と共同で実施し、当センターでシロの生態調査を行い、森林総合研究所で窒素循環に関する分析を行った。

## 2 試験の方法

### 2.1 シロ付近の外生菌根菌等調査

昭和 55 年からマツタケ山として環境改善施業を行い維持管理している、下伊那郡豊丘村試験地及び上伊那郡辰野町試験地<sup>1),2),4),5),6)</sup>の下記(1)～(3)の3か所において、マツタケのシロ活性帯の外側 30cm 部の A～B 層土壌を 100mℓ ずつ採取し、根系の水洗、菌根の洗浄、実体顕微鏡観察により、マツタケ以外の外生菌根菌の菌根チップ数、菌根チップ乾燥重量、直径 2mm 以下のアカマツ細根乾燥重量等を調査した<sup>3),7)</sup>。

(1)平成 20 年 7 月に豊丘村試験地のマツタケ子実体発生数の多い施業区 0.25ha 内(32 年間平均値 945 本/ha・年)の No. 5 シロと、マツタケ子実体発生数の少ない対照区 0.25ha 内(32 年間平均値 442 本/ha・年)の No. 6 シロにおいて、12 サンプルずつ土壌を採取し比較調査した。

(2)平成 21 年 8 月に豊丘村試験地施業区の円形状 No. 5 シロ(昭和 55～平成 22 年の子実体発生量 1,015 本)において、マツタケ子実体発生数の多い部分とマツタケ子実体発生数の少ない部分で 5 サンプルずつ土壌を採取し比較調査した。

(3)平成 22 年 12 月に辰野町試験地施業区の円形状 No. 1 シロ(平成 2～22 年の子実体発生量 118 本)において、マツタケ子実体発生数の多い部分とマツタケ子実体発生数の少ない部分で 5 サンプルずつ土壌を採取し、菌根、アカマツ細根、土壌粒度、水分等を比較調査した。

### 2.2 窒素固定活性等の測定

(1)マツタケのシロ付近の土壌を試料とする場合には、根粒や落葉に比べて窒素固定活性が低いと考えられ、一般的測定方法を改良する必要があるため、サンプルサイズや温度、反応時間が活性量へ及ぼす影響を調べ窒素固定活性測定条件について検討した。

平成 20 年 9, 10, 11 月に豊丘村試験地内施業区の No. 5, 7, 9 のマツタケのシロで、シロ活性帯の内側と外側 30cm 部位及びシロ部(子実体発生部位)で A～B 層土壌を 200mℓ ずつ採取し、森林総合研究所でアセチレン還元測定法により生成エチレン量をガスクロマトグラフィーで測定し窒素固定活性を間接法により求めた。また、土壌

pH(H<sub>2</sub>O), 全窒素量を測定した(以下, 分析方法は同じ) 8), 9)。

(2)平成 21 年 4, 7, 11 月に豊丘村試験地で土壌を採取し分析した。また, シロ付近に生息する土壌中細菌数を希釈平板法で, PDA 培地と 1/100 濃度の PDA 培地を用いて従属栄養細菌と低栄養細菌に区分し測定した。

(3)平成 22 年 4, 7, 10, 11 月に豊丘村試験地で土壌を採取し分析した(写真)。

### 3 試験結果と考察

#### 3.1 シロ付近の外生菌根菌調査

(1)ソヨゴ, コナラ, サクラ, ネジキ等の広葉樹が少ない施業区では, 対照区と比較してマツタケ以外の外生菌根菌の生息密度が低かった(図-1)。昭和 55 年からアカマツ以外の樹木を除間伐して環境管理している施業区内では, マツタケ菌と競合する外生菌根菌が少ないと考えられた。サンプル土壌中の外生菌根菌は, 顕微鏡観察による形態から判断して無胞子不完全菌目, セノコッカム属, イボタケ属等のきのこが多かった 3)。

アカマツ細根密度は両区とも同程度だった。これは, 両区のアカマツ立木密度が 1,300 本/ha, 平均樹高 21m, 平均 DBH 25cm で差がないためと考えられた。

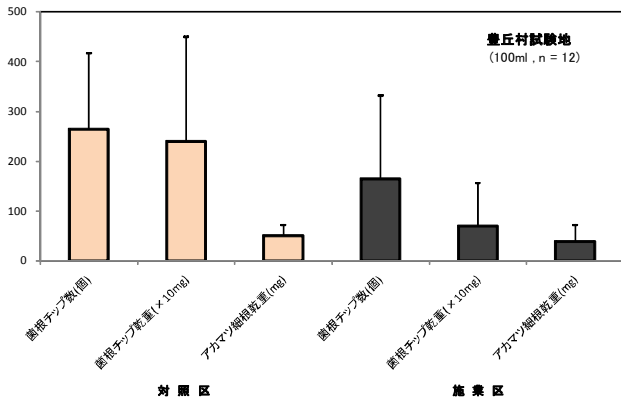


図-1 外生菌根菌とアカマツ細根の状態 (H. 20. 7. 1.)

(2)マツタケ子実体発生数の多い部分では, 同じシロ上でも子実体発生数の少ない部分と比較してマツタケ以外の外生菌根菌の生息密度が低く, アカマツの細根密度が高かった(図-2, 3)。子実体発生数の多い部分は, マツタケ菌と競合する外生菌根菌の生息数が少ない状況にあると考えら

れた。採取土壌中の外生菌根菌は, 形態から判断して無胞子不完全菌目, セノコッカム属, チチタケ属のきのこが多かった。

(3)マツタケ子実体発生数の多い部分では, 同一シロ上でも子実体発生数の少ない部分と比較して, マツタケ菌と競合する外生菌根菌の生息密度が低く, アカマツの細根密度が高かった(図-4)。この傾向は, 豊丘村試験地 No. 5 シロの分析結果(図-3)と同様であった。

土壌の物理性については, マツタケ子実体発生数の多い部分では粗粒子土壌の割合が多く, 含水率・有機物含有量が低い特徴が認められた。子実体発生数の少ない部分では粗粒子土壌の割合が少なく, 含水率・有機物含有量が高い特徴が認められた(表-1)。

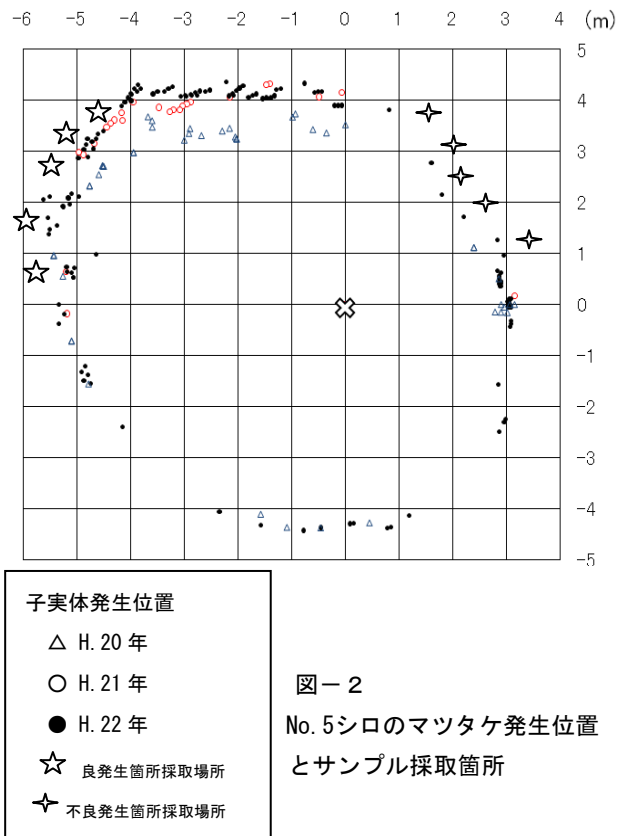


図-2 No. 5シロのマツタケ発生位置とサンプル採取箇所

#### 3.2 窒素固定活性等の測定

(1)根粒や落葉を試料とする場合よりも多量の土壌試料を用いて, 野外条件に近い 20℃で, 24 時間のアセチレン還元測定法により, マツタケのシロ付近土壌の窒素固定活性が測定可能であると分かったので, これを本試験の測定条件とした。

窒素固定活性及び pH(H<sub>2</sub>O)は, マツタケ菌系活

性帯のシロ部で低い値を示した。全窒素量は No. 7 でシロ部の値が低くなり、No. 5, 9 と傾向が異なったが、この原因は No. 7 のシロが不整円での確にシロ部の土壌を採取できなかったことにあると考えられた(表-2, 3)。

(2) 窒素固定活性は、季節変動が大きく一定の傾向は見られなかったが、シロ部で高い値は示さなかった。pH(H<sub>2</sub>O)は、年3回の測定で大きな差は見られなかった。全窒素量はシロ部で多くなる傾向が見られた(表-4)。

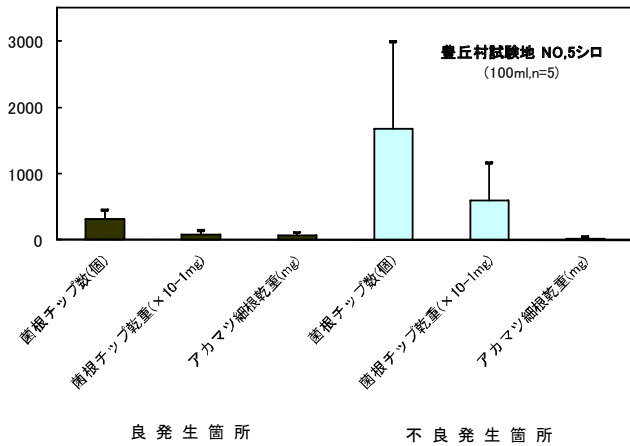


図-3 外生菌根菌とアカマツ細根の状態 (H. 21. 8. 7.)

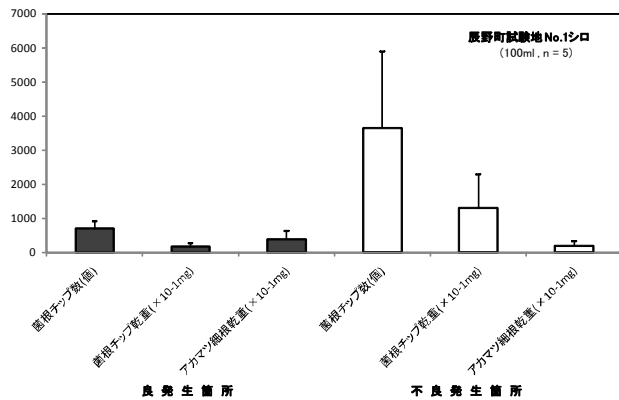


図-4 外生菌根菌とアカマツ細根の状態 (H. 22. 12. 10.)

表-1 土壌内の重量割合(100ml, n=5)

	粒度別土壌乾燥重量 # (mm)			水分・有機物
	1.71~3.35	3.36~4.75	4.76~	
良発生箇所 (125生g) %g	4.4(0.5)	4.0(0.5)	50.6(9.6)	41.0(8.8)
不良発生箇所 (103生g) %g	7.1(0.6)	3.8(0.6)	35.3(9.1)	53.8(10.4)

注) ( )内は標準偏差

従属栄養細菌数、低栄養細菌数ともにシロ部で少なく、シロ内側とシロ外側で多くなる傾向が認められた。このことから、シロ拡大に必要な窒素栄養源は、シロ外側の土壌に生育している微生物から得ていると推測された。しかし、その微生物が窒素固定能を持っているかどうかは明らかではない(表-5)。

(3) 4回採取した平均値を図-5, 6, 7に示した。窒素固定活性は季節変動が大きく、シロ部で低い値を示し、シロ部に窒素固定細菌は存在しないものと考えられた。また、pH(H<sub>2</sub>O)は大きな季節変動はなく、シロ部で周囲より低い傾向が認められた。全窒素量はシロ部でシロ内側より多くなった。

表-2 No. 5, 7, 9 シロのマツタケ子実体発生量

No.	H. 2 0		H. 2 1		H. 2 2	
	発生本数(本)	生重量(g)	発生本数(本)	生重量(g)	発生本数(本)	生重量(g)
5	46	2,130	31	1,750	137	7,440
7	7	260	4	150	34	1,360
9	24	900	5	190	42	1,310

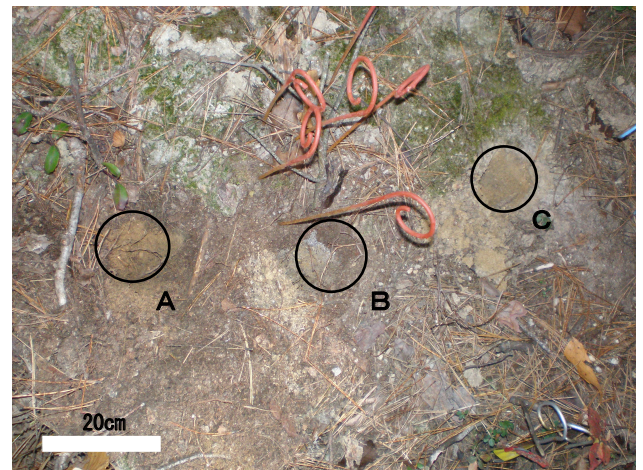


写真 No. 5 シロの土壌採取の様子(H. 22. 11. 19.)

注) A: シロ外側, B: シロ部, C: シロ内側の各土壌採取箇所を示す。ピンの標示はマツタケ子実体の発生位置。

表-3 窒素環境測定結果(H. 20. 11. 13.)

NO.	測定項目	シロ外側	シロ部	シロ内側
5	窒素固定活性 (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> nmoles/日/g乾重)	0.29	0.06	0.15
	pH(H <sub>2</sub> O)	4.79	4.75	4.90
	全窒素 (mgN/g 乾重)	0.68	0.84	0.27
7	窒素固定活性 (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> nmoles/日/g乾重)	0.38	0.04	0.42
	pH(H <sub>2</sub> O)	5.36	4.55	4.92
	全窒素 (mgN/g 乾重)	0.83	0.41	1.37
9	窒素固定活性 (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> nmoles/日/g乾重)	0.18	0.09	0.17
	pH(H <sub>2</sub> O)	5.06	4.57	5.08
	全窒素 (mgN/g 乾重)	0.93	1.03	0.48

表-4 窒素環境測定結果(H. 21. 7. 27.)

NO.	測定項目	シロ外側	シロ部	シロ内側
5	窒素固定活性 (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> nmoles/日/g乾重)	0.24	0.01	0.17
	pH(H <sub>2</sub> O)	3.84	3.98	3.83
	全窒素 (mgN/g 乾重)	0.18	0.16	0.14
7	窒素固定活性 (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> nmoles/日/g乾重)	0.01	0.08	0.07
	pH(H <sub>2</sub> O)	4.04	3.83	4.05
	全窒素 (mgN/g 乾重)	0.08	0.24	0.08
9	窒素固定活性 (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> nmoles/日/g乾重)	0.55	0.08	0.02
	pH(H <sub>2</sub> O)	3.61	3.97	3.98
	全窒素 (mgN/g 乾重)	0.11	0.22	0.16

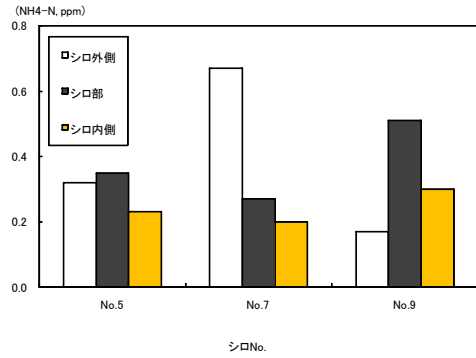


図-7 土壌全窒素量

表-5 細菌数調査結果(H. 21. 7. 27.)

NO.	細菌数(logCFU/g)	シロ外側	シロ部	シロ内側
5	従属栄養細菌数	6.6	6.2	6.7
	低栄養細菌数	6.5	6.4	7.1
7	従属栄養細菌数	6.9	6.0	6.8
	低栄養細菌数	7.1	6.1	6.8
9	従属栄養細菌数	6.4	5.3	6.2
	低栄養細菌数	6.5	5.2	6.5

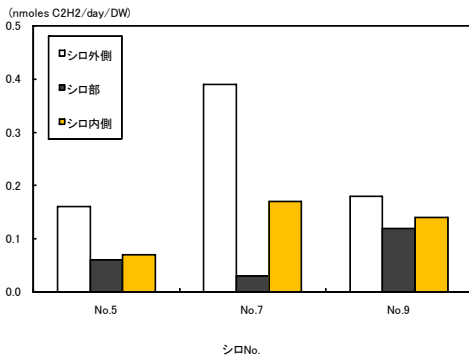


図-5 土壌窒素固定活性値

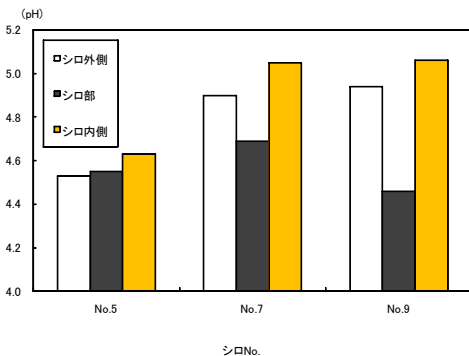


図-6 土壌 pH(H<sub>2</sub>O)

#### 4 まとめ

マツタケ発生林においてシロ付近の土壌調査をしたところ、マツタケ子実体の発生数が多い林分では、マツタケ菌と競合する外生菌根菌の生息密度が低いことが分かった。また、1つの円形状シロでマツタケ子実体の発生数が多い部分では、マツタケ菌と競合する外生菌根菌の生息密度が低く、アカマツの細根密度が高いことが分かった。さらに、マツタケ子実体の発生数が多い部分では粗粒子土壌の割合が多く、含水率・有機物含有量が低い特徴が認められた。

マツタケのシロ活性帯内にマツタケ菌と同時に生息している有用な窒素固定細菌がいるのではないかとの推測に基づき、3年間に10回シロ付近の土壌分析を行い調査したが、シロ部に窒素固定活性値が高くなる傾向は認められず、そのような細菌はいないものと考えられた。このことから、マツタケ菌がコロニーを拡大して連年成長する場合には、シロ外側の領域に生息している微生物から窒素栄養源を得ているものと考えられた。

#### 5 謝辞

本試験の実施及び試験地管理、調査については、(独)森林総合研究所森林微生物研究領域チーム長山中高史氏、豊丘村産業振興課、豊丘村宮外勝氏、辰野町雨沢耕地組合、辰野町小澤操氏の諸氏に多大なる協力をいただきました。ここに感謝して厚く御礼申し上げます。

#### 参考文献

- 1) 長野県特用林産振興会(2005) つくるマツタケへ-まつたけ増産のてびき・改訂Ⅲ版-, 西

沢印刷, 92pp

- 2) 竹内嘉江(2007) マツタケの豊凶指数-降水量と地温変化による発生量の予測(Ⅱ)-, 中森研 55, 201~202
- 3) 竹内嘉江(2010) マツタケのシロ付近における外生菌根菌量とアカマツ細根量, 中森研 58, 121~122
- 4) 竹内嘉江他(2011) マツタケ発生林施業法の開発, 長野県林総セ研報 25, 65~75
- 5) 竹内嘉江他(2011) マツタケ・イグチ等有用菌根菌の現地適応化調査試験, 長野県林総セ研報 25, 83~94
- 6) 竹内嘉江他(2011) 地球温暖化に適応したマツタケ発生林施業法の開発, 平成 22 年度長野県林総セ業報, 70~71
- 7) 山田明義(2001) 菌類の採取・検出と分離, 日菌報 42, 33~39
- 8) 山中高史他(2008) わが国に生息する放線菌根性植物とフランキア菌, 森林総研研報 7, 67~81
- 9) 山中高史他(2011) 東日本の小流域での3種の樹木の落葉分解における窒素固定活性, Journal of Forest Research 16(1), 1~7